



KÄYTTÖOPAS THERMO SCIENTIFIC MICROM HM340E- ROTAATIOMIKROTOMILLE JA STS-VESIHAUTEELLE

Opinnäytetyö

Koulutusala Sosiaali-, terveys- ja liikunta-ala			
Koulutusohjelma Bioanalytiikan koulutusohjelma			
Työn tekijä(t) Katja Juntto & Satu Kontinen			
Työn nimi Käyttöopas Microm HM340E-rotaatiomikrotomille ja STS-vesihauteelle			
Päiväys	26.2.2015	Sivumäärä/Liitteet	58/25
Ohjaaja(t) Jaana Hoffrén			
Toimeksiantaja/Yhteistyökumppani(t) Savonia-ammattikorkeakoulu			
<p>Tiivistelmä</p> <p>Kliininen histologia on diagnostisen patologian osa-alue, joka tutkii erilaisia kudokset ja kudokset rakenteiden muutoksia. Jotta kudosta on mahdollista tutkia mikroskooppisesti, sitä on esikäsitteltävä monin tavoin. Tätä prosessia kutsutaan histologiseksi laboratorioprosessiksi. Prosessin lopputuloksena syntyy ohuita mikroskooppipreparaatteja eli histologisia leikkeitä. Leikkeiden leikkaamiseen käytettävää työvälinettä kutsutaan mikrotomiksi. Laadukkaita leikkeiden leikkaaminen on tärkeä taito patologian laboratoriossa työskentelevälle bioanalytikolle. Leikkaamisen harjoittaminen on osa bioanalytiikan koulutusohjelmaa. Opiskelijat harjoittelevat leikkaamista kliinisen histologian ja sytologian opintojakson harjoitustunneilla.</p> <p>Tämän opinnäytetyön tarkoitus oli tuottaa oppimateriaalia Savonia-ammattikorkeakoulun kliinisen histologian ja sytologian opintojaksolle. Opinnäytetyö on toiminnallinen kehittämistyö, jonka toimeksiantaja on Savonia-ammattikorkeakoulu. Opinnäytetyön tuotos on bioanalytikko-opiskelijoille suunnattu käyttöopas Thermo Scientific Microm HM340E-rotaatiomikrotomille ja STS-vesihauteelle. Opinnäytetyön tavoitteena oli tukea opiskelijoiden mikrotomityöskentelyyn liittyvää oppimista koulun harjoitustunneilla ja siten antaa heille hyvä tieto- ja taitoperusta kliinisen histologian työharjoittelujaksolle. Lisäksi tavoitteena oli osallistua opetuksen kehittämistoimintaan opintojakson harjoitustuntien sujuvuuden edistämiseksi.</p> <p>Toiminnallinen opinnäytetyö koostuu sekä toiminnallisesta osuudesta että opinnäytetyöraportista. Tämän opinnäytetyön toiminnallisen osuuden tuotos on käyttöopas Microm HM340E-rotaatiomikrotomille ja STS-vesihauteelle. Oppaaseen sisältyy STS-integroidun Microm HM340E-mikrotomin kokoamis- ja huolto-ohjeet. Lisäksi se ohjaa kohta kohdalta mikrotomilla työskentelyyn, tarjoaa ratkaisuja yleisimpiin leikkaamiseen ja laitteen käyttöön liittyviin ongelmatilanteisiin sekä kertoo histologisten leikkeiden laatukriteereistä mahdollista näin opiskelijan itsenäisen työskentelyn laitteella. Opinnäytetyöraportti käsittelee toiminnallisen osuuden kannalta keskeisimpiä teoria-asioita, joita ovat histologinen laboratorioprosessi ja mikrotomia osana diagnostista patologiaa.</p>			
<p>Avainsanat</p> <p>patologia, histologia, histologinen laboratorioprosessi, mikrotomia, mikrotomi, leikkaaminen, histologinen leike, käyttöohje</p>			

Field of Study Social Services, Health and Sports			
Degree Programme Degree Programme of Biomedical Laboratory Science			
Author(s) Katja Juntto & Satu Kontinen			
Title of Thesis User Guide for Microm HM340E rotary microtome and STS Section Transfer System			
Date	26.2.2015	Pages/Appendices	58/25
Supervisor(s) Jaana Hoffrén			
Client Organisation /Partners Savonia University of Applied Sciences			
<p>Abstract</p> <p>Clinical histology is a branch of diagnostic pathology which examines various tissue specimens and pathological alterations in them. In order to be able to examine tissue in a microscope, it has to be prepared in various ways. This process is called histological sample preparation which results in obtaining thin sections suitable for microscopic examination as known as histological slides. The instrument used for cutting the sections is called a microtome. Cutting of high quality sections is an important skill for a biomedical laboratory scientist working in a pathology laboratory. Cutting practices are a part of the training programme in biomedical laboratory science. Students practice cutting during practical training lessons, which are included in the studies of clinical histology and cytology.</p> <p>The purpose of this thesis was to produce learning material for clinical histology and cytology studies at Savonia University of Applied Sciences. The thesis is a functional development project, assigned by Savonia University of Applied Sciences. The product of the thesis is a user guide for biomedical laboratory science students that instructs the use of Thermo Scientific Microm HM340E rotary microtome and STS section transfer system. The objective of this thesis was to support students in the process of learning how to work with a microtome, thus providing them with basic skills before they attend practical training in clinical histology laboratories. In addition the objective was to participate in the developing of teaching customs in order to improve the practical training lessons.</p> <p>A functional thesis consists of a functional part and a thesis report. The product of the functional part of this thesis is the user guide for Microm HM340E rotary microtome and STS section transfer system. The guide includes the assembling and maintenance instructions for the STS integrated Microm HM340E microtome. Also it has step by step instructions on working with the microtome and provides solutions for common problems associated with cutting. The guide also includes the quality criteria set for histological sections. In this way students may work independently with the instrument. The report part discusses themes relevant to the functional part. These are histological sample preparation and microtomy as parts of the diagnostic pathology.</p>			
<p>Keywords pathology, histology, histological sample preparation, microtomy, microtome, cutting, histological section, user guide</p>			

SISÄLTÖ

JOHDANTO.....	5
1 PATOLOGIA.....	7
1.1 Kliinisen patologian laboratorio	7
1.2 Työturvallisuus ja työergonomia patologian laboratoriossa.....	8
2 KLIININEN HISTOLOGIA.....	9
2.1 Histologiset näytteet	9
2.2 Laadunhallinta histologian laboratoriossa.....	10
3 HISTOLOGINEN LABORATORIOPROSESSI	12
3.1 Fiksointi.....	12
3.2 Dissekointi.....	13
3.3 Kudoskuljetus	13
3.4 Valaminen	14
3.5 Leikkaaminen	15
3.6 Värjääminen ja päällystäminen	16
4 MIKROTOMIA	17
4.1 Erilaiset mikrotomit	17
4.2 Jääleikkeet ja jääleikemikrotomia	18
4.3 Kovakudosnäytteet ja niiden leikkaaminen.....	19
5 THERMO SCIENTIFIC MICROM HM340E-ROTAATIOMIKROTOMI JA STS-VESIHAUDE.....	20
6 KÄYTTÖOHJE OPPIMATERIAALINA	22
7 OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS JA TAVOITTEET	23
8 TYÖN TOTEUTTAMINEN	24
8.1 Toiminnallinen opinnäytetyö	24
8.2 Opinnäytetyöprosessin eteneminen	24
9 POHDINTA	26
9.1 Työn eettisyys ja luotettavuus	26
9.2 Tavoitteiden toteutuminen.....	26
9.3 Oman oppimisen ja ammatillisen osaamisen kehittymisen arviointi.....	27
LÄHTEET	29
LIITE 1: KÄYTTÖOPAS.....	33

JOHDANTO

Diagnostinen patologia on lääketieteen erikoisala, joka tutkii ja tunnistaa sairauksia sekä niiden syitä (Lehto 2012, 16). Kliininen histologia on diagnostisen patologian osa-alue, joka tutkii kudospäyitteitä ja kudostakenteiden muutoksia. Histologisen tutkimuksen avulla saadaan monipuolisesti tietoa kudosten toiminnasta ja rakenteesta. (Myhre 1993, 195, 199.) Kudospäyitteitä täytyy käsitellä monin tavoin, ennen kuin ne ovat valmiita mikroskooppiseen tarkasteluun. Käsitelyyn kuuluu useita eri työvaiheita, ja tätä prosessia kutsutaan histologiseksi laboratoriossessiksi. (Spencer, Bancroft & Jones 2013, 105.) Mikrotomia on histologisessa laboratoriossessissa käytetty menetelmä, jonka avulla kudospäyte voidaan leikata ohuiksi leikkeiksi ja kiinnittää objektilasille mikroskooppista tarkastelua varten. Kudospäyitteiden leikkaamiseen käytettävää työvälinettä kutsutaan mikrotomiksi. (Chandak, Chaudhary & Chandak 2012, 2.)

Patologian laboratoriossa työskentelevien bioanalyttikkojen tehtävänä on valmistaa päyitteet patologien tutkittaviksi (Huhtakallio 1995, 10). Bioanalyttikon on tunnettava teoria histologisessa laboratoriossessissa käytettävien menetelmien taustalla ja osattava yhdistää se käytäntöön, jotta prosessin lopputuloksena saataisiin laadukkaita leikkeitä. Kaikki histologisen laboratoriossessin työvaiheet ovat tärkeitä työn lopputuloksen kannalta. (Kiernan 2008, 11; Helin 1995.) Onnistuneet leikkeet ovat ehdoton edellytys kudostakenteiden yksityiskohtaiselle tarkastelulle (Niskanen 2013a, 14). Huonolaatuinen leike saattaa aiheuttaa vaikeuksia tai virheitä päyitteen tulkinnessa. Laadukkaiden histologisten leikkeiden leikkaaminen on tärkeä ja vaativa taito patologian laboratoriossa työskentelevälle bioanalyttikolle. Leikkaamisen harjoittelu on tärkeä osa bioanalyttikon opintoja, sillä tämän taidon oppii vain käytännön työssä. (Chandak ym. 2012, 2, 83.)

Opinnäytetyömme tarkoitus oli tuottaa oppimateriaalia Savonia-ammattikorkeakoulun bioanalytiikan koulutusohjelman klinisen histologian ja sytologian opintojaksolle. Teimme bioanalyttikko-opiskelijoille käyttöoppaan Thermo Scientific Microm HM340E-rotatiomikrotomille ja Microm STS-vesihauteelle. Käyttöopas on suunniteltu käytettäväksi opintojakson harjoitustunneilla opetuksen rinnalla, ja sen avulla opiskelijat voivat myös työskennellä itsenäisesti laitteella. Oppaaseen sisältyy STS-integroidun Microm HM340E-mikrotomin kokoamis- ja huolto-ohjeet. Lisäksi opas ohjaa kohta kohdalta mikrotomilla työskentelyyn, tarjoaa ratkaisuja yleisimpiin leikkaamiseen ja laitteen käyttöön liittyviin ongelmatilanteisiin sekä kertoo histologisten leikkeiden laatuksiteereistä. Opinnäytetyömme tavoitteena oli tukea bioanalyttikko-opiskelijoiden mikrotomityöskentelyyn liittyvää oppimista koulun harjoitustunneilla ja siten antaa heille hyvä tieto- ja taitoperusta klinisen histologian työharjoittelu- jaksolle. Lisäksi tavoitteenamme oli osallistua opetuksen kehittämistoimintaan opintojakson harjoitustuntien sujuvuuden edistämiseksi.

Opinnäytetyömme on luonteeltaan toiminnallinen kehittämistyö, jonka tilaaja on Savonia-ammattikorkeakoulu. Toiminnallinen opinnäytetyö koostuu sekä tuotoksesta että opinnäytetyön kirjallisesta osuudesta eli opinnäytetyöraportista (Vilkkä & Airaksinen 2003). Opinnäytetyömme tuotos

on käyttöopas Microm HM340E-rotatiomikrotomille ja STS-vesihauteelle. Opinnäytetyömme raporttiosuus käsittelee tuotoksen kannalta keskeisimpiä teoria-asioita, joita ovat histologinen laboratoriosprosessi ja mikrotomia osana diagnostista patologiaa.

Tämän opinnäytetyön kautta olemme perehtyneet histologiseen laboratoriosprosessiin ja prosessissa käytettyjen menetelmien taustalla olevaan teoriaan. Olemme myös perehtyneet bioanalyttikon työtehtäviin kliinisen histologian laboratoriossa sekä erityisesti syventäneet tietämystämme ja käytännön osaamistamme mikrotomityöskentelyyn liittyen. Opinnäytetyöprosessi on edistänyt ammatillista kasvuamme ja kehittänyt patologian laboratoriossa bioanalyttikolta vaadittavia työelämän taitoja. Kaiken kaikkiaan opinnäytetyön tekeminen oli laaja ja vaativa prosessi, joka on monin tavoin haastanut ja ohjannut meitä kehittymään tiellämme bioanalytiikan asiantuntijoiksi.

1 PATOLOGIA

Jotta sairauksia voitaisiin hoitaa ja ehkäistä, on tutkittava niiden syitä, olemusta ja etenemistä. Patologian tieteenala tutkii juuri näitä asioita. Sananmukaisesti patologialla eli tautiopilla tarkoitetaan oppia sairauksista. (Myhre 1993, 8; Lehto & Stenbäck 2012, 95.) Elimistön muutoksia selvittävää kliinisen lääketieteen erikoisalaa kutsutaan diagnostiseksi patologiaksi (Mäkinen & Lehto 2012a, 11). Diagnostinen patologia tutkii kudoksissa ja soluissa tapahtuvia muutoksia sekä makroskooppisin että mikroskooppisin menetelmin (Myhre 1993, 9). Makroskooppisella tutkimuksella tarkoitetaan paljain silmin havaittavien poikkeavien rakenteiden tutkimista. Mikroskooppinen tutkimus tarkoittaa mikroskoopin avulla tehtävää kudoksen- ja solurakenteiden tutkimista. (Huhtakallio 1995, 10.)

Diagnostisen patologian keskeiset tehtävät ovat sairauksien tunnistaminen, niiden olemuksen kuvaaminen ja syytekijöiden tunnistaminen (Lehto 2012, 16). Tavoitteena on päästä diagnoosiin eli taudin määrittämiseen. Diagnostinen patologia voidaan jakaa kahteen osa-alueeseen, jotka ovat kliininen histologia ja kliininen sytologia. Kliininen histologia tutkii erilaisia kudoksenäytteitä ja etsii niistä patogeneesiä eli sairaalloisia muutoksia. Kliininen sytologia etsii syöpäsoluja eri tavoin otetuista solunäytteistä, esimerkiksi virtsa-, likvor- tai yskösnäytteistä. (Myhre 1993, 195; Suomen Bioanalyttikoliitto 2014.)

Patologian tieteenalan tutkimus on perinteisesti ollut kuvailevaa makroskooppista ja mikroskooppista tutkimusta. Viime vuosikymmeninä tutkimuksen painopiste on laajentunut analyttiseen tutkimukseen, jonka tarkoitus on selvittää sairauksien erilaisia mekanismeja. Solubiologisten ja immunohistokemiallisten tekniikoiden kehittyminen on johtanut siihen, että nykyään voidaan tarkastella yhä pienempiä sairauksiin liittyviä rakenteiden muutoksia. Tutkimuksen kohteeksi on rakenteen ja toiminnan ohella noussut solujen informaationsäilyminen. (Mäkinen & Lehto 2012b, 11.)

1.1 Kliinisen patologian laboratorio

Suurin osa kliinisen patologian laboratorioon tulevista näytteistä saapuu leikkaustoimintaa harjoittavilta yksiköiltä ja obduktio- eli ruumiinavausyksiköstä. Näytteitä patologisia tutkimuksia varten otetaan myös avohoito- ja tutkimusyksiköissä sekä sairaaloissa. Saapuvat näytteet valmistetaan, tutkitaan ja arkistoidaan patologian laboratoriossa. (Myhre 1993, 195; Huhtakallio 1995, 10.) Vaikka laboratoriovälineistö on kehittynyt voimakkaasti viimeisten 20 vuoden aikana, työ patologian laboratoriossa on edelleen pitkälti käsityötä. Myös näytteiden diagnostiikka on aikaa vievää ja yksittäisen näytteen työstäminen diagnoosiin asti vaatii usean työntekijän työpanoksen. (Mäkinen 2012a, 1125.)

Patologian laboratoriossa työskentelevien bioanalyttikoiden tehtävänä on valmistaa näytteet patologian erikoislääkärin eli patologin tutkittaviksi. Toimistohenkilökunnan tehtäviin kuuluvat mm. näytteiden vastaanottaminen, sanelujen kirjoittaminen ja lausuntojen postittaminen. Patologian laboratorion alaisuudessa toimii myös obduktioyksikkö, jossa patologi tekee obduktiohoitajan avustamana

ruumiinavauksia ja kuolinsyymäärityksiä. Kuolemansyyn selvittäminen tapahtuu sekä patologin tekemän silmämääräisen arvion että kudospäätöiden avulla. (Huhtakallio 1995, 10-11.)

1.2 Työturvallisuus ja työergonomia patologian laboratoriossa

Välttämätön ja keskeinen osa kaikkea laboratoriotyötä on työhön liittyvien riskien arvioiminen, välttäminen ja hallitseminen. Toiminnan tavoitteena on ehkäistä työperäisiä vammoja ja sairauksia. (Dunk 2013, 1-2.) Patologian laboratoriotyöhön liittyy sekä kemiallisia, biologisia että fysikaalisia vaaratekijöitä. Laboratoriossa käytetään syöpävaarallisia, allergisoivia sekä palo- ja räjähdysvaarallisia aineita. Merkittävä biologinen vaaratekijä on tuberkuloositartuntavaara, joka on mahdollinen tuoreita kudoksia käsiteltäessä. (Salomaa 2013.)

Suomessa työntekijöiden työturvallisuudesta huolehditaan lainsäädännössä. Työnantaja on velvollinen huolehtimaan työntekijöiden turvallisuudesta ja terveydestä työpaikalla (L 738/2002, § 8). Työnantajan tulee selvittää ja arvioida työolosuhteiden turvallisuus sekä työperäiset terveysvaarat ja -haitat (L 1383/2001, § 12). Työntekijän altistuminen turvallisuuden tai terveyden vaarantaville kemiallisille, biologisille ja fysikaalisille tekijöille on rajoitettava niin vähäiseksi, etteivät työntekijän turvallisuus ja terveys vaarannu (L 738/2002, § 38 - 40). Työnantajan velvollisuus on toteuttaa työpaikan kemikaaliriskinarviointi, jossa tunnistetaan työssä esiintyvien kemiallisten tekijöiden aiheuttamat vaarat ja arvioidaan niistä työntekijöiden terveydelle mahdollisesti aiheutuvat riskit (A 715/2001, § 6). Laboratorion riskinhallintasuunnitelmassa tulee arvioida kaikki työympäristöön liittyvät riskit sekä niiden todennäköisyys ja vakavuus. Kaikki riskit, jotka voidaan välttää, tulee poistaa. Riskit, jotka eivät ole täysin poistettavissa, tulee minimoida mahdollisimman tehokkaasti. (Dunk 2013, 2.)

Patologian laboratoriossa useat staattiset työvaiheet asettavat haasteita työergonomialle. Erityisesti histologisten leikkeiden leikkaaminen ja mikroskopiointi rasittavat käsiä ja niskaa. Myös viilto- ja leikkautumisvaaraa esiintyy laboratoriotyön eri työvaiheissa. (Salomaa 2013.) Työergonomiia on parantanut erityisesti leikkaustyövälineiden eli mikrotomien kehittyminen ergonomisemmiksi ja käyttäjäystävällisemmiksi. Nykyään liukumikrotomeja ergonomisemmat rotaatiomikromit ovat yleistyneet, ja myös moottorikäyttöisiä malleja on kehitetty käsikäyttöisten mallien rinnalle. Yksi suurimmista työturvallisuuden parannuksista on myös mikrotomiveitsien kehittyminen pienemmiksi ja turvallisemmiksi. (Buesa 2007a.) Työterveyslaitos suosittelee yksipuolisessa työssä kuormittumisen välttämiseksi työtehtävien vaihtelemista. Työkierron avulla työntekijään kohdistuvaa kokonaiskuormitusta voidaan vähentää jakamalla työtehtävät useampien työntekijöiden kesken. Työkierron toimivuus edellyttää kuitenkin sitä, että kaikki työntekijät hallitsevat työkiertoon kuuluvat tehtävät. (Työterveyslaitos 2015.)

2 KLIININEN HISTOLOGIA

Histologian tieteenala tutkii kudosten rakennetta ja toimintaa. Histologisen tutkimuksen avulla saadaan tietoa sairauden syystä, syntymekanismista ja levinneisyydestä. Kliinisen histologian tutkimuksen painopiste liittyy kasvainten tutkimiseen ja erotusdiagnostiikkaan hyvän- tai pahanlaatuisiksi. Histologinen tutkimus on tärkeä osa myös monien maksa- ja munuaissairauksien, gynekologisten sairauksien, ihomuutosten ja joidenkin tulehduksellisten sairauksien diagnosointia ja hoitoa. Kudoksenäytteitä tutkimalla voidaan seurata sairauden etenemistä, hoidon tarvetta, vastetta ja ennustetta. (Myhre 1993, 199.) Kudosten tutkimiseen yleisimmin käytetty menetelmä on histologisten leikkeiden valmistaminen ja tutkiminen valomikroskoopissa (Junqueira, Carneiro & Kelley 1998, 1).

Kliinisen histologian laboratoriossa työskentelevät bioanalyytikot valmistavat kudoksenäytteistä histologisia leikkeitä patologin tekemää mikroskooppitutkimusta varten (Huhtakallio 1995, 10). Patologi laatii tutkimuksen pohjalta kirjallisen lausunnon, jossa kuvataan todetut muutokset ja esitetään tulkinta niiden laadusta ja merkityksestä potilaan hoidon kannalta. Se sisältää myös kuvauksen näytteestä, arvion edustavuudesta sekä koepalojen lukumäärän. Lausunto sisältää myös patologis-anatomisen diagnoosin (PAD). (Myhre 1993, 201; Mäkinen 2012b, 1130.)

2.1 Histologiset näytteet

Histologiset näytteet ovat tyypillisesti kudosten kappaleita eli koepaloja. Ne voivat olla myös kokonaisia elimiä eli resekatteja. Koepaloja tarvitaan erilaisten muutosten diagnosointia varten silloin, kun patologis-anatomisella diagnoosilla on merkitystä potilaalle tehtävien jatkotoimenpiteiden tai hoitojen kannalta. Kasvaimen erotusdiagnostiikka ja syövän etsiminen ovat tyypillisiä koepalan indikaatioita. (Mäkinen 2012c, 1125-1126.)

Koepaloja otetaan pienkirurgisissa toimenpiteissä, leikkauksissa, tähystyksissä sekä röntgenissä ultraääniohjauksessa. Tähystysten yhteydessä koepaloja voidaan ottaa esimerkiksi ruokatorvesta, mahalaukusta, keuhkoputkista tai suolistosta. Monista sisäelimestä, kuten maksasta ja munuaisista, voidaan ottaa näyte ihon läpi neulalla. Myös obduktion yhteydessä otetaan koepaloja kuolinsyyn selvittämiseksi. (Myhre 1993, 199; Huhtakallio 1995, 14.)

Koepalat voidaan jakaa pieniin ja suuriin operatiivisiin näytteisiin. Pieniä operatiivisia näytteitä ovat paikallispuudutuksessa pienkirurgisissa toimenpiteissä poistetut näytteet, esimerkiksi luomet. Myös yleisimmät syväkirurgiset näytteet, kuten sappirakko ja umpilisäke lasketaan pieniksi operatiivisiksi näytteiksi. Suuret operatiiviset näytteet ovat sairauden vuoksi poistettuja elimiä, elinten osia tai elinryhmiä. Paikallisen muutoksen vuoksi poistetuista näytteistä arvioidaan muutoksen luonteen lisäksi sairaan kudoksen poiston onnistuminen. (Mäkinen 2012c, 1126.)

Tyypillisesti histologiset näytteet säilötään fiksointiliuokseen välittömästi näytteenoton jälkeen jatkokäsittelyä varten, jotta entsyymien aiheuttama kudoksen hajoaminen pysähtyy (Huhtakallio 1995, 14). Osa näytteistä kuitenkin lähetetään tuoreena patologian laboratorioon, jos niistä halutaan tehdä

sellaisia tutkimuksia, joiden toteuttaminen onnistuu vain tuoreesta kudoksesta. Tuorenäytteistä valmistetaan erikoiskäsittelymenetelmällä jääleikkeitä, jotka voidaan valmistaa diagnosoitaviksi hyvin nopeasti, vain 15 - 20 minuutissa. Käyttöalueita ovat esimerkiksi vasta-ainetutkimukset ja kirurginen patologia. (Mäkinen 2012c, 1126.) Jääleikemenetelmää käsitellään enemmän omassa kappaleessaan 5.2.1..

2.2 Laadunhallinta histologian laboratoriossa

Laatu voidaan määritellä esimerkiksi siten, miten hyvin jokin tuote tai palvelu soveltuu käyttötarkoitukseensa ja vastaa sille asetettuja odotuksia. Jotta laboratorio voi tuottaa parasta mahdollista palvelua asiakkailleen ja klinikoille, on kattava laadunhallintajärjestelmä välttämätön. Patologian laboratoriossa laatua tarkkaillaan sekä sisäisesti että ulkoisesti. Sisäiseen laadunhallintaan kuuluu laboratorioprosessissa tapahtuvien virheiden eli poikkeamien tunnistaminen ja eliminoiminen. Ulkoinen laadunvarmistus taas mittaa laboratorion suorituskykyä verrattuna muihin laboratorioihin. Lisäksi ulkoiset laaduntarkkailukierrokset tarjoavat asiantuntijanäkökulman yksittäisen laboratorion toiminnan ja siellä käytettävien tekniikoiden kehittämiseen. (Dunk 2013, 5-6.)

Patologian alan valtakunnallinen laaduntarkkailutoiminta aloitettiin Suomessa vuonna 1991 ottamalla käyttöön laaduntarkkailukierrokset (Helin 1995). Histologisen diagnostiikan ja tekniikan laaduntarkkailukierroksia järjestää Suomessa Labquality Oy (International Academy of Pathology 2010). Histologisen tekniikan laaduntarkkailukierroksilla arviointi on hyvä kohdistaa yksilöidysti laboratorioprosessin eri osa-alueisiin, jotta laboratorioilla on mahdollisuus paikantaa laboratorioprosessin mahdollisia ongelmia saadun asiantuntijapalautteen perusteella (Helin 1995). Esimerkiksi värjäyksen laaduntarkkailu on tärkeää, koska epätasainen värjäyslaatu aiheuttaa vaikeuksia leikkeiden mikroskooppiselle tarkastelulle ja diagnosoinnille. Värjäysautomaatit ovat luotettavia, mutta väreissä itsessään voi olla eroja, jotka vaikuttavat värjäysaikaan. Erän numeron vaihtuminen, tavarantoimittajan vaihtuminen, pH-vaihtelut sekä värin ikä ovat yleisimpiä värjäyksen laatuun vaikuttavia ongelmia. (Bancroft & Layton 2013, 184.)

Suurin osa ongelmista histologisessa laboratorioprosessissa aiheutuu esitietojen puutteellisuudesta tai virheellisuudesta tai näytteiden epäonnistuneesta esikäsittelystä. Yleisiä ongelmia ovat myös kirjaamisessa tapahtuvat virheet ja näytekasettien virheellinen numerointi tai katoaminen. (Tolppanen 2011.) Myös näytteen alkuperä, laatu ja näytteenottotapa vaikuttavat lopputulokseen, samoin kuin kaikki histologisen laboratorioprosessin työvaiheet. Näistä syistä histologisten leikkeiden laadunarviointi ei ole yksinkertaista. On helppo nähdä, onko leike huono- vai hyvälaatuinen. Sen sijaan on vaikeaa saada selville huonoon laatuun vaikuttaneet tekijät. (Helin 1995.) Patologin tekemän diagnoosin oikeellisuus ei riipu pelkästään hänen ammattitaidostaan, vaan koko näytteen läpikäymän käsittelyprosessin aukottomuudesta ja virheettömyydestä. (Söderström 2015.) Patologilla on siis tärkeä rooli laboratorion sisäisessä laaduntarkkailussa, sillä hän on viimeinen, joka tarkastaa histologisten leikkeiden laadun (Dunk 2013, 6). Patologin tulisi antaa laboratoriohenkilökunnalle palautetta heidän tekemänsä työn laadusta (Buesa 2007a).

Poikkeamien systemaattinen kirjaaminen on tärkeä osa laboratorion sisäistä laadunhallintaa ja toiminnan jatkuvaa kehittämistä. Patologian laboratoriossa poikkeama on jokin sellainen tapahtuma joka aiheuttaa sen, että jokin laboratorioprosessin osa ei toteudu sille asetettujen laatuvaatimusten mukaisesti. Poikkeaman tapahtuessa sen havaitsijan tulee tehdä arvio poikkeaman vakavuudesta ja ryhtyä välittömästi korjaaviin toimenpiteisiin. On tärkeää huomioida, että vakavat poikkeamat voivat vaikuttaa virheellisesti potilaan diagnoosiin ja ennusteeseen voiden siten aiheuttaa vakaviakin seurauksia potilaan hoidon kannalta. Poikkeamien antama informaatio palvelee potilaiden lisäksi laboratorion omaa toimintaa ja ohjaa kehittämään laboratorioprosessin oikeita osa-alueita. Tarkoituksena on löytää poikkeamia aiheuttavat syyt, jolloin laboratorioprosessin epäkohtiin voidaan puuttua ja löytää systemaattisia virheitä toiminnassa. Satunnaisvirheiden kirjaaminenkin antaa tietoa siitä mitä voi tapahtua, ja mitä toimenpiteitä vastaavien virheiden välttämiseksi voidaan tehdä tulevaisuudessa. (Tolppanen 2011.) Parhaat toimenpiteet histologisen laboratorioprosessin virheiden ehkäisemiseksi ovat työntekijöiden hyvä perehdytys ja jatkuva täydennyskoulutus (International Academy of Pathology 2010). Koko henkilökunnan on oltava pätevää ja työhönsä koulutettua. Lisäksi on tärkeää että laboratoriollla on vakioidut ja sopiviksi katsotut työohjeet, joita kaikki työntekijät noudattavat. (Dunk 2013, 7.)

3 HISTOLOGINEN LABORATORIOPROSESSI

Histologisia näytteitä täytyy käsitellä erilaisin menetelmin, ennen kuin ne ovat valmiita mikroskooppiseen tarkasteluun (Spencer ym. 2013, 105). Tätä vaihetta kutsutaan histologiseksi laboratoriossessiksi. Histologisen laboratoriossessin vaiheet ovat näytteen fiksointi, dissekointi, kuduskuljetus, valaminen, leikkaaminen, värjääminen ja päälystäminen. (Niskanen 2013a, 13.) Prosessin päämääränä on tuottaa histologisia leikkeitä, joissa tutkittavan näytteen kudusrakenne vastaisi mahdollisimman hyvin elävän kudoksen rakennetta (Junquiera ym. 1998, 1).

Jotta histologinen laboratoriosprosessi voidaan suorittaa laadukkaasti, menetelmien taustalla oleva teoretieto on osattava yhdistää käytännön taitoihin (Kiernan 2008, 11). Kaikki prosessin työvaiheet ovat yhtä tärkeitä ja jokainen vaihe vaikuttaa leikkeiden lopulliseen laatuun (Helin 1995). Histologiset näytteet ovat ainutkertaisia ja korvaamattomia. Näytteen katoaminen tai sen käsittelyn epäonnistuminen laboratoriosprosessin aikana aiheuttaa kaiken näytteen sisältämän informaation katoamisen. (Buesa 2007.)

Histologisen näytteen valmistaminen mikroskooppitutkimusta varten kestää keskimäärin 3 - 5 vuorokautta siitä, kun näyte saapuu laboratorioon (Huhtakallio 1995, 15). Patologin lausunto on yleensä valmiina lähtemään lähettävälle yksikölle noin yhden työviikon kuluttua tästä. Vaikeasti diagnosoitavien ja luuta tai kalkkeutunutta kudosta sisältävien näytteiden käsittely kestää kauemmin. (Mäkinen 2012e, 1127.) Näytteiden pitkää käsittelyaikaa selittää työn käsityöpainotteisuus (Suomen bioanalytikkoliitto 2014).

3.1 Fiksointi

Fiksoinnilla tarkoitetaan histologisen näytteen kiinnittämistä. Fiksoinnin tarkoitus on säilyttää tutkittava kudospäyte muodoltaan ja kemiallisilta ominaisuuksiltaan elävän kudoksen kaltaisena. (Kiernan 2008, 12.) Kudospäytteet tulee fiksoida mahdollisimman nopeasti näytteenoton jälkeen, sillä fiksointi pysäyttää kudoksessa tapahtuvan bakteeritoiminnan ja entsyymien aiheuttaman solukuoleman eli autolyysin (Junqueira ym. 1998, 1). Fiksaatiovaiheen onnistuminen on tärkeää, sillä se vaikuttaa prosessin myöhemmissä vaiheissa näytteen leikkautuvuuteen, värjäytyvyyteen ja morfologiaan (Naukkarinen 2013a, 11).

Fiksointiin voidaan käyttää erilaisia menetelmiä ja fiksatiiveja. Yleisin fiksointimenetelmä on kemiallinen fiksointi, jossa kudospäyte upotetaan fiksointiliuokseen. (Cook 1998, 8-9.) Yleisimmin käytetty fiksatiivi on formaliini, joka on formaldehydin vesiliuos. Hyvä näyte-fiksatiivisuhde on vähintään 1 : 10. Fiksointiin kuluva aika riippuu käytetystä fiksatiivista ja kudospälan koosta. Formaliinin ideaalinen fiksointiaika on 12 - 18h. (Naukkarinen 2013a, 8-11.)

Täydellistä fiksatiivia tai fiksointimenetelmää ei ole (Kiernan 2008, 12). Fiksatiivit yleensä muuttavat hieman kudoksen kokoa ja kemiallista rakennetta. Ionien ja pienten molekyylien hukkaa esiintyy, koska fiksatiivit inaktivoivat entsyymejä. Nämä asiat vaikuttavat kudoksen morfologiaan, joka ei säily

aivan luonnollisen kaltaisena. (Hurbain & Sachse 2011.) Kohtuullinen kudoksen kovettuminen helpottaa laboratorioprosessissa myöhemmin tapahtuvaa histologisten leikkeiden leikkaamista (Kiernan 2008, 6).

3.2 Dissekointi

Dissekointi eli käyntiinpano tarkoittaa histologisen näytteen pilkkomista pienemmiksi, edustaviksi näytepaloiksi. Dissekoinnin suorittaa näytetyypistä riippuen joko patologi tai bioanalyttikko. (Naukarinen 2013a, 13.) Dissekoinnin jälkeen näytepalat kasetoidaan eli laitetaan numeroituihin näytekasetteihin ja kasettien lukumäärä kirjataan läheteeseen (Mäkinen 2012e, 1128).

Kasetti on muovinen kotelo, jossa näyte kulkee laboratorioprosessin läpi. Käytössä on erikokoisia ja erivärisiä kasetteja. Kasetin koko valitaan tutkittavan näytepalan koon mukaan. Näytepala ei saa täyttää kasettia kokonaan, vaan kasetin reunoille tulee jäädä tyhjää tilaa. Jos näytepala on laitettu kasettiin liian ahtaasti, kemikaalit eivät pääse kuduskuljetuksessa tunkeutumaan kudoksen sisälle ja näytteen käsittely epäonnistuu. Kasetin värin avulla voidaan kuvata esimerkiksi näytteen kiireellisyyttä tai haluttua värjäysmenetelmää. (Suvana & Layton 2013, 97-99.)

Pienet koepalat voidaan tutkia kokonaisina eli niitä ei tarvitse dissekoida (Mäkinen 2012e, 1128). Bioanalyttikko kasetoi pienet koepalat kokonaisuudessaan näytekasetteihin. Keskikokoiset näytteet bioanalyttikko mittaa, hopeoi ja dissekoi näytekasetteihin. Suuremmat kudoksenäytteet ja leikkausresekaatit dissekoi patologi. (Söderström 2015.) Näytteestä riippuen näytekasetteja voi tulla jopa kymmeniä (Mäkinen 2012e, 1128).

Dissekointivaiheeseen kuuluu myös tutkittavan kudoksenäytteen huolellinen dokumentointi. Näyte arvioidaan makroskooppisesti sekä valokuvataan tai siitä piirretään selkeä kuva. Kuvasta tulee käydä ilmi näytteen muoto, koko ja yksityiskohdat sekä mistä kohdasta tai kohdista alkuperäistä näytettä näytepalat on dissekoitu. Resektio- eli leikkauspinnat merkitään selkeästi. Näytteen tarkka dokumentointi on tärkeää, jotta patologin on mikroskopointivaiheessa helpompaa perehtyä näytteeseen. (Naukarinen 2013a, 13; Mäkinen 2012e, 1128; Suvana & Layton 2013, 98.)

3.3 Kuduskuljetus

Fiksoidut kudokset ovat yleensä melko pehmeitä ja tarvitsevat tukea, jotta histologisten leikkeiden leikkaaminen onnistuisi. Kuduskuljetuksessa kudospala täytetään tukiaineella, jolloin se kovettuu ja siten leikkaantuu paremmin. Yleisimmin histologiassa käytetty tukiaine on parafiini. Huoneenlämpötilassa parafiini ja kudokset vastaavat kovuudeltaan toisiaan, mikä on tärkeää leikkaamisvaiheen onnistumisen kannalta. (Cook 1998, 19, 27.) Kuduskuljetuksen vaiheet ovat vesihuuhtelu, dehydointi, kirkastaminen ja kyllästäminen (Niskanen 2013a, 14). Nykyään laboratorioissa käytetään automatisoituja kuduskuljettimia (Suomen bioanalyttikkoliitto 2014).

Kudoskuljetuksen ensimmäinen vaihe on vesihuuhtelu, joka tarkoittaa fiksointiliuoksen poistamista kudoksesta huuhtelemalla sitä vedellä (Niskanen 2013a, 14). Seuraavaksi tapahtuva dehydroidi tarkoittaa veden poistamista kudoksesta. Se tapahtuu nousevassa etanolisarjassa, yleisimmin alkaen 70 % etanolista aina 100 % etanoliin. Vesi siis poistetaan ja korvataan etanolilla. (Junqueira ym. 1998, 2.) Dehydroidi on välttämätön työvaihe, koska parafiini ja vesi eivät liukene toisiinsa. Jos vettä ei ensin poisteta, parafiini ei pääse tunkeutumaan sisälle kudokseen, vaan jähmettyy kudospalan ympärille. Tällöin kudoksen leikkaaminen on vaikeaa. (Cook 1998, 19.)

Dehydroidin jälkeen etanoli poistetaan kudoksesta korvaamalla se liuottimella. Tätä vaihetta kutsutaan kirkastamiseksi, sillä työvaihe tekee kudoksen läpikuultavaksi. Liuottimen tulee olla liukeneva sekä etanolin että tukiaineen kanssa. Yleisimmin käytetty liuotin on ksyleeni, sillä se liukenee parafiiniin. Kirkastamisvaiheen jälkeen näytteet upotetaan sulaan parafiiniin 58 – 60 °C lämpötilassa. Tätä vaihetta kutsutaan kyllästämiseksi. Lämpö saa liuottimen haihtumaan, ja kudos täyttyy tukiaineella. (Junqueira ym. 1998, 2.) Kudoskuljetus kestää yhteensä n. 15 tuntia (Niskanen 2013a, 14).

3.4 Valaminen

Kudoskuljetuksen tavoin myös valamisen tarkoitus on antaa kudoksenäytteelle tarvittava tuki, jotta näyte ja sen kudusrakenteet eivät hajoaisi leikkaamisvaiheessa. Kudoskuljetuksessa näyte on kyllästetty parafiinilla, eli se on tuettu sisäpuolelta. Valamisessa parafiini jähmetetään kudoksenäytteen ympärille, eli näyte tuetaan myös ulkopuolelta. Valamisvaiheessa sulan parafiinin muotteihin annostelemiseen käytetään valuautomaattia. Valettua kudoksenäytettä kutsutaan blokiksi. (Cook 1998, 19, 28; Spencer ym. 2013, 110; Niskanen 2013a, 14.)

Valettava kudoksenäyte asetetaan muottiin aina suurin leikkauspinta alaspäin, sillä tarkoituksena on saada poikkileikkauskuva halutusta rakenteesta (Niskanen 2013a, 14). Muotteja on erikokoisia, ja sopiva koko valitaan näytepalan koon mukaan. Näytepala ei saa täyttää muottia kokonaan, vaan muotin reunoille tulee jäädä tyhjää tilaa. Näin kudospalan ympärille mahtuu riittävästi parafiinia tukemaan näytettä. (Spencer ym. 2013, 110.) Näytepalaa tulee painaa muotin pohjaan asti tasaisesti kun se asetetaan muottiin (Tolppanen 2011). Kasetti laitetaan muotin päälle kanneksi, ja muotti täytetään parafiinilla. Tämän jälkeen muotti siirretään nopeasti kylmälevylle, jolloin parafiini jähmettyy tasaisesti kudospalan ympärille. (Spencer ym. 2013, 110.)

Epäonnistunut valaminen saattaa aiheuttaa blokin hajoamisen ja jopa näytteen tuhoutumisen leikkaamisvaiheessa. Lisäksi, jos näytettä ei paineta tasaisesti muotin pohjaa vasten, näytepala menee helposti vinoon. Tämä johtaa siihen, että näytteen koko pintaa ei saada leikattua lasille ja näyte voi jäädä osittain analysoimatta. (Tolppanen 2011.) Diagnostiikan kannalta on ehdottoman tärkeää asettaa kudoksenäyte muottiin oikein päin, jotta haluttujen kudusrakenteiden tarkastelu mikroskopiointivaiheessa mahdollistuu (Spencer ym. 2013, 110).

3.5 Leikkaaminen

Koska kudokset ja elimet ovat yleensä liian paksuja läpäisemään valoa, ne täytyy leikata ohuiksi ja leikkeiksi mikroskopointia varten. Laadukkaat ja oikeanpaksuiset leikkeet ovat ehdoton edellytys histologisen näytteen kudoksen ja solurakenteiden mikroskooppiselle tarkastelulle. (Niskanen 2013a, 14.) Yleisimmin kliinisessä histologiassa käytetty leikepaksuus on 4 - 5 µm. Paksumpia (10 - 20 µm) leikkeitä tarvitaan esimerkiksi kun halutaan tarkastella keskushermoston rakenteita. Paksuudeltaan hyvin ohuita (1 - 2 µm) leikkeitä tarvitaan erityisen solukkoisten kudosten, esimerkiksi imusolmukkeiden, tutkimiseen. Leikkaamiseen käytettäviä työkaluja kutsutaan mikrotomeiksi. (Chandak ym. 2012, 2.)

Leikattava näyteblokki kylmennetään kylmälevyllä ennen leikkaamista (Spencer & Bancroft 2013 128). Blokin on hyvä kylmentyä kunnolla, sillä kovaa ja kylmää materiaalia on helpompi leikata kuin lämmintä ja pehmeää. Kylmentämisen jälkeen näyteblokki kiinnitetään mikrotomin blokinpidikkeeseen, jossa se pysyy paikallaan. Leikattaessa mikrotomin leikkausterä eli veitsi lähestyy tutkittavaa näyteblokkia aina ennalta määritellyn etäisyyden eli leikepaksuuden verran. Kun näyteblokki kohtaa leikkausterän, se liukuu terän läpi, jolloin syntyy ennalta määritellyn paksuinen leike. (Chandak ym. 2012, 2, 14, 71.) Onnistuneet leikkeet siirretään hetkeksi kylmään vesihauteeseen kellumaan. Siitä ne siirretään lämpimään vesihauteeseen, jossa ne suoristuvat. Suoristuneet leikkeet poimitaan käsin pensselin avulla varovasti objektilasille ja laitetaan kuivumaan ja odottamaan värjäystä joko lämpölevylle tai lämpökaappiin. (Niskanen 2013a, 15.) Kuivattamiseen sopiva lämpötila on n. + 37 °C. Tässä lämpötilassa lasi ja leike kuivuvat, mutta lämpötila ei ole liian korkea sulattamaan parafiinia. Jos parafiini sulaa, lasilla oleva kudoks saattaa hajota. Toisaalta jos kuivattaminen epäonnistuu ja leikkeet jäävät märiksi, ne irtoavat lasilta värjäyksessä. (Cook 2012, 37.)

Koska leikkeiden laatu vaikuttaa siihen, miten kudoksen rakenteet erottuvat mikroskoopissa, huonosti leikattu tai muuten huonolaatuinen leike voi aiheuttaa vaikeuksia tai virheen näytteen tulkintavaiheessa (Chandak ym. 2012, 2.) Lisäksi leikkeiden laadulla on suora vaikutus niiden värjäytyvyyteen, sillä paksuudeltaan epätasaiset leikkeet värjäytyvät epätasaisesti tai eri kohdista erivärisiksi (Naukkari 2013c, 38). Yleisimpiä leikkaamisen haasteita aiheuttavat tylsynyt veitsi ja lämmennyt blokki, jotka aiheuttavat artefakteja kuten esimerkiksi ryppyjä leikkeisiin. Liian jyrkkä leikkauskulma voi myös tehdä leikkeistä ryppeisiä. Kun leikkauskulma on sopiva, näytteeseen kohdistuu vähemmän painetta ja kitkaa. Veristen kudosten leikkaaminen on myös haastavaa, sillä ne reikiintyvät helposti leikattaessa. (Chandak ym. 2012, 69, 71.)

Histologisen laboratorioprosessin aikaisemmista työvaiheista erityisesti epäonnistunut parafiinillä kylmästäminen vaikuttaa näytteen leikkautuvuuteen ja kudoks murenee helposti leikattaessa (Cook 2012, 36). Jos leikkausvaiheessa huomataan ongelmia näytteen leikkautuvuudessa eikä blokista saada leikattua laadukasta leikettä, blokki kannattaa sulattaa. Tämän jälkeen näytepala rehydroidaan, käsitellään uudelleen kuduskuljetuksessa ja valetaan uudestaan blokiksi. (Kiernan 2008, 55.)

Mikrotomilla leikkaaminen vaatii kädentaitoja ja käytännön harjoittelu on ainoa keino oppia tämä taito. Leikkaajan on tiedettävä, miten leikkaamisessa tarvittavia välineitä käytetään ja huolletaan. Jo harjoittelun alkuvaiheessa täytyy lisäksi opetella hyvän leikkeen kriteerit, jotta leikkaaja oppii alusta alkaen leikkaamaan laadukkaita leikkeitä. Hyvin koulutettu ja paljon harjoitellut laboratoriohoitaja pystyy tuottamaan laadukkaita leikkeitä nopeasti. Liiallinen pyrkimys nopeuteen ei tässä työvaiheessa kuitenkaan kannata, sillä silloin leikkeiden laatu kärsii. (Chandak ym. 2012, 2, 83.) Lisäksi leikatessa on muistettava, että histologisen näytteen tavoin myös jokainen leike on ainutlaatuinen. Jokainen leikattu leike, jota ei käytetä, vähentää näytteen alkuperäistä tietoa. (Buesa 2007a.)

3.6 Värjääminen ja päällystäminen

Koska useimmat kudokset ovat luonnostaan värittömiä, niiden mikroskooppinen tarkastelu ilman värjäystä on vaikeaa. Histologiset näytteet värjätään, jotta kudoksen eri osat ja rakenteet voidaan helpommin erottaa toisistaan tekemällä ne erivärisiksi. On olemassa useita erilaisia värejä ja värjäysmenetelmiä, jotka soveltuvat erilaisiin tarkoituksiin. (Junqueira ym. 1998, 3; Kiernan 2008, 74-75.) Värit ovat värillisiä orgaanisia yhdisteitä, jotka sitoutuvat kudokseen selektiivisesti (Cook 1998, 70). Värit sitoutuvat kudokseen värjäyksessä tapahtuvan kemiallisen reaktion avulla. Väreillä pyritään saamaan aikaan kontrasti eri rakenteiden välille. Eri rakenteet saadaan esille erivärisinä käyttämällä kahta tai useampaa väriä. (Cook 1998, 64-65.) Värjäysliuoksessa käytetään värien lisäksi myös muita aineita, jotka parantavat värjäystulosta. Tällaisia aineita kutsutaan mordanteiksi. (Cook 1998, 75.)

Värien käyttötapa vaihtelee. Progressiivinen värjäys tarkoittaa sitä, että leikkeitä värjätään niin pitkään kunnes haluttu värin voimakkuus on saavutettu. Regressiivinen värjäys tarkoittaa sitä, että leikkeitä värjätään liikaa niin, että ne ovat tummempia kuin halutaan, ja sitten poistetaan ylimääräinen väri. Ylimääräisen värin poistamista kutsutaan diffaukseksi. Regressiivinen värjäystapa on yleensä parempi, sillä värit värjäävät kudoksen rakenteen lisäksi myös taustan. Kun väriä poistetaan, myös osa taustan väristä poistuu, jolloin morfologian tarkastelu on helpompaa. (Cook 1998, 76.)

Yleisimmin käytetty värjäys on hematoksyliini-eosiini eli HE-värjäys. HE-värjäyksessä hematoksyliini värjää tuman ja muut kudoksen happamat rakenteet sinisiksi. Eosiini värjää emäksiset sytoplasman ja sidekudoksen punaisiksi. (Junqueira ym. 1998, 3.) HE-värjäyksen suosiota selittää menetelmän yksinkertaisuus sekä sen kyky erottaa useat eri kudostyrakenteet toisistaan (Bancroft & Layton 2013, 173). Värjäykset tehdään nykyään useimmiten automaattisella värjäysautomaatilla, mutta myös käsivärjäystä voidaan käyttää tarpeen mukaan. Värjäyksen jälkeen objektilasilla oleva näyte voidaan peittää peitinlasilla. Näin näyte säilyy ja kudosten rakenteita voidaan tutkia vuosienkin jälkeen. Peitinaineena käytetään yleensä ksyleenipohjaista liimaa. (Naukkarinen 2013a, 15.) Päällystämisen avulla saadaan paras ja selkein näkymä näytteestä (Cook 1998, 95).

4 MIKROTOMIA

Mikrotomia on histologisessa laboratorioprosessissa käytetty menetelmä, jolla kudoksenäyte voidaan leikata ohuiksi leikkeiksi ja kiinnittää objektilasille mikroskooppista tarkastelua varten. Mikrotomiassa käytettävää leikkaustyökalua kutsutaan mikrotomiksi. (Chandak ym. 2012, 2.)

Kudoksen mikroskooppinen tutkiminen mahdollistui ensi kerran historiassa valomikroskoopin keksimisen myötä. Kudosta yritettiin aluksi tutkia vuoleamalla siitä ohuita siivuja partaterällä mikroskopointia varten. Pian kuitenkin huomattiin, että jotta valo läpäisisi näytteen, olisi tärkeää kehittää menetelmä tuottaa siistejä ja tasalaatuisia, noin 0-100 µm paksuisia leikkeitä. Ensimmäiset tähän tarkoitukseen soveltuvat mikrotomin kaltaiset laitteet keksi George Adams Jr. jo 1770-luvulla. Tällöin mikrotomeista käytettiin nimitystä leikkauskone. 1800-luvun lopussa värjäysten ja leikkauskoneiden kehittyminen mahdollistivat kudosten mikroskooppisen tarkastelun solutasolla asti. Vuonna 1839 Charles Chevalier alkoi käyttää leikkauskoneista sanaa mikrotomi. Mikrotomien keksimisestä ja kehittämisestä on vain vähän tarkkaa tietoa, mutta monien keksijöiden ja tutkijoiden tiedetään vuorotellen uudistaneen ja kehittäneen mikrotomeja jo 1700-luvulta lähtien. Mikrotomien kehittyminen on mahdollistanut hyvin pienten kudoksen rakenteiden tutkimisen, sillä nykyisillä mikrotomeilla voidaan leikata jopa vain 0,05 µm:n paksuisia leikkeitä. (Chandak ym. 2012, 4-7.)

4.1 Erilaiset mikrotomit

Erityyppisiä mikrotomimalleja on kehitetty erilaisiin tarkoituksiin ja erilaisten materiaalien leikkaamiseen sopiviksi (Cook 1998, 33). Sopiva mikrotomi valitaan työn laadun ja tutkittavan näytemateriaalin mukaan. Eri mikrotomimallit eroavat toisistaan kooltaan ja toimintamekanismeiltaan. (Chandak ym. 2012, 15.) Mikrotomit voidaan jakaa toimintamekanisminsa mukaan kahteen ryhmään. On mikrotomeja, joilla leikattaessa veitsi liikkuu kohti näyteblokkia, joka pysyy paikallaan. On myös mikrotomeja, joilla leikattaessa veitsi pysyy paikallaan ja blokinpidike liikkuu kohti veistä. (Chandak ym. 2012, 11.)

Kaikissa mikrotomimalleissa on kolme laitteelle tyypillistä osaa, jotka ovat laitteen toiminnan perusta. Nämä ovat blokinpidike, veitsenpidike ja säätöruuvit, joilla voidaan säätää leikkauskulmaa ja leikepaksuutta. Leikattava näyteblokki kiinnitetään mikrotomissa olevaan blokinpidikkeeseen, ja leikkausterä eli veitsi kiinnitetään veitsenpidikkeeseen. (Chandak ym. 2012, 14.) Yhteistä kaikille malleille on myös se, että kun mikrotomilla leikataan, joko leikkausterä liikkuu kohti blokkia tai blokki liikkuu kohti leikkausterää aina ennalta määritellyn etäisyyden verran. Tämä käyttäjän määrittämä etäisyys on siten sama kuin leikattavien leikkeiden paksuus. (Chandak ym. 2012, 2.)

Mikrotomin mallin ja toimintamekanismin lisäksi myös mikrotomiveitsellä on merkitystä. Mikrotomiveitsenä käytetään teräs-, lasi- tai timanttiveitsiä riippuen leikattavasta materiaalista, sen kovuudesta ja halutusta leikepaksuudesta. (Chandak ym. 2012, 4.) Nykyään parafiinileikkeiden leikkaamiseen käytetään yleisimmin kertakäyttöisiä teräsveitsiä (Niskanen 2013a, 1). Yleisimmin klinisen histologi-

an laboratorioissa käytetään liuku- ja rotaatiomikrotomeja (Cook 1998, 34). Ne soveltuvatkin hyvin parafiinileikkeiden leikkaamiseen (Chandak ym. 2012, 14-15).

Liukumikrotomin veitsiosa on liikkuva ja blokinpidike pysyy paikallaan. Blokki asetetaan pidikkeeseen leikkauspinta ylöspäin, ja veitsi liikkuu vaakatasossa blokkia kohti lähestyen sitä ylhäältäpäin. Liukumikrotomia käytetään vetämällä raskasta kelkkaa, johon veitsi on kiinnitetty. Liukumikrotomit ovat painavampia ja raskastekoisempia kuin muut mikrotomityypit. Ne sopivat hyvin parafiinileikkeiden mutta myös suurikokoisten ja kovien näytteiden leikkaamiseen. Raskastekoisuutensa vuoksi ne ovat kuitenkin myös työläitä käyttää. Liukumikrotomin käytössä ongelmia voi aiheuttaa se, että veitsi saattaa hypähtää osuessaan kovaan kudospinnokeeseen. (Cook 1998, 34; Chandak ym. 2012, 18-19.)

Rotaatiomikrotomin veitsi on vaakatasossa ja pysyy paikallaan. Rotaatiomikrotomissa on pyöritettävä käsikampi, jota pyörittämällä blokki liikkuu pystysuunnassa veistä kohti ylhäältä alas suuntautuvalla liikkeellä. Jokainen ohjauspyörän pyörähdys tuo blokinpidikettä lähemmäs mikrotomin terää. Kun blokki ylittää veitsen terän, näyte leikkaantuu ohueksi leikkeeksi. (Chandak ym. 2012, 15-16; Junqueira ym. 1998, 2.) Uudempiin rotaatiomikrotomimalleihin on asennettu moottori, jota voidaan ohjata esimerkiksi jalkapolkimella. Rotaatiomikrotomin etuja ovat sen vakaus, jolloin leikkaamista häiritsevää värinää syntyy vähemmän. Sillä voidaan myös leikata sekä yksittäisiä leikkeitä että leikkeenauhaa. (Chandak ym. 2012, 16-17.) Rotaatiomikrotomit eivät kuitenkaan sovellu suurikokoisten tai kovien näytteiden leikkaamiseen yhtä hyvin kuin liukumikrotomit (Cook 1998, 34).

4.2 Jääleikkeet ja jääleikemikrotomia

Jääleikkeiden käyttöalueita ovat entsyymihistokemia, immonohistokemia ja rasvavärjäykset. Jääleikkeet sopivat histokemiallisesti pienten molekyylien ja herkkien entsyymien tutkimiseen siksi, että jäädyttäminen ei fiksatiivien tapaan inaktivoi useimpia entsyymejä, eikä pienten molekyylien hävikkäitä tapahdu. Rasvaisten näytteiden käsittelyyn menetelmä sopii siksi, koska rasvamolekyyliä liuottavaa ksyleenikäsittelyä ei tarvita. (Spencer & Bancroft 2013, 129-131; Junqueira 1998, 2-3.) Jääleikkeet sopivat hyvin esikäsittelymenetelmäksi myös elektronimikroskopiaan (Hurbain & Sachse 2011). Menetelmää tarvitaan myös kirurgisen operaation aikana silloin, kun kasvaimen diagnoosilla on merkitystä jatko-operaation kannalta ja diagnoosi tarvitaan nopeasti. Jääleikkeet voidaankin valmistaa laboratoriossa diagnosoitaviksi hyvin nopeasti, vain 15 - 20 minuutissa. (Mäkinen 2012c, 1126.)

Yleensä näytemateriaalina käytetään fiksoimatonta kudospinnokeita eli tuorenäytteitä, sillä fiksoitu kudos ei jäädyttämisen jälkeen leikkaudu hyvin ja värjäytyy huonosti (Chandak ym. 2012, 22). Jääleikemenetelmän periaate on sama kuin fiksoinnin: kun tuore kudos jäädytetään nopeasti, biologiset toiminnot siinä pysähtyvät (Hurbain & Sachse 2011). Yleensä jäädyttämiseen käytetään nestemäistä typpeä. Jäädyttämisen jälkeen näyte siirretään jääleikemikrotomiin eli kryostaattiin, jonka lämpötila on - 20 °C. Kryostaatissa leikataan n. 5 µm paksuisia leikkeitä, jotka sitten pikavärjätään. Jääleikkeitä valmistettaessa on tärkeää huomioida työturvallisuus. Työntekijän tulee huomioida ja suojata itsensä liuosten ja kryostaatin kylmiltä lämpötiloilta. (Niskanen 2013b, 23-24)

Vaikka jääleikemenetelmällä saadut leikkeet eivät ole yhtä laadukkaita kuin parafiinileikkeet, menetelmän etuna on nopea diagnoosi (Chandak ym. 2012, 51). Menetelmällä on selkeitä etuja, mutta siihen liittyy myös muutamia ongelmia. Kun kudος jäätyy, siihen saattaa muodostua morfologiaa häiritseviä jääkiteitä. Nopealla jäädyttämisellä voidaan kuitenkin estää jääkiteiden muodostuminen kudoksen sisälle. Myös leikkaamisvaiheessa syntyy helposti artefaktaa. Nämä asiat voivat johtaa samaan morfologiaan. (Hurbain & Sachse 2011.)

4.3 Kovakudoksen näytteet ja niiden leikkaaminen

Kovakudoksen näytteiksi kutsutaan luuta tai rustoa sisältäviä näytteitä. Kovakudoksen näytteitä ovat esimerkiksi luuydinnäytteet ja hampaat. Kovakudokset ovat liian kovia leikattaviksi tavallisilla mikrotomilla ilman erikoiskäsittelyä. Kovakudos voidaan vaihtoehtoisesti valaa joko parafiiniin tai muoviin. Jos kovakudos valetaan parafiiniin, se tulee dekalsifioida ennen kudoksen kuljetusta. Dekalsifioinnilla tarkoitetaan tutkittavan kudoksen pehmentämistä liuottamalla siitä epäorgaanisia suoloja, jotka tekevät kudoksesta kovan. Dekalsifioinnin avulla mahdollistetaan myös se, että tukiaine eli parafiini pääsee näytteen kyllästämisen vaiheessa tunkeutumaan kovakudoksen sisälle. Dekalsifointiin voidaan käyttää joko muurahais- tai typpihappoa tai EDTA:ta. (Naukkarinen 2013b, 30; Kiernan 2008, 45.) Luun dekalsifioiminen kuitenkin hävittää luusta tärkeitä suoloja, muuttaa luun morfologiaa ja siten vaikeuttaa diagnosoimista (Cano-Sánchez, Campo-Trapero, Gonzalo-Lafuente, Moreno-López & Bascones-Martínez 2005).

Vaihtoehtoksi dekalsifioinnille on kehitetty muovivalutekniikka. Muoviin valamisen etuna on se, että luun morfologia säilyy kun dekalsifikaatiota ei tarvita. Dekalsifioimattomien näytteiden avulla voidaan morfologian lisäksi tutkia myös luun solubiologiaa, mikä ei ole muutoin mahdollista. Biologian tutkimisesta on merkittävää hyötyä monien luuston sairauksien, kuten esimerkiksi osteoporoosin, tutkimisessa. Muovivalutekniikassa tutkittava näyte valetaan fiksoinnin ja kudoksen kuljetuksen jälkeen muoviin. Käyttökelpoisimmiksi muoveiksi ovat osoittautuneet epoksi- ja akryylimuovit. Muoviin valettujen leikkeiden leikkaamiseen tarvitaan erityinen kovakudoksen mikrotomi, mutta koska luun ja muovin kovuus ovat lähellä toisiaan, näyte leikkautuu hyvin. Näytteestä saadaan myös leikattua ohuempia leikkeitä, jolloin erotuskyky mikroskoopissa paranee. Leikkaamisen jälkeen leikkeille tehdään muovinpoisto ennen värjäämistä. (Cano-Sánchez ym. 2005; Naukkarinen 2013b, 30, 32.)

Muovivalutekniikkaa voidaan hyödyntää myös silloin, kun tarvitaan erikoisohuita leikkeitä joko valotai elektronimikroskooppitutkimusta varten. Parafiinin ominaisuudet eivät riitä näin ohuiden (0,5 - 1 µm) leikkeiden tuottamiseen, eikä parafiini myöskään sovellu elektronimikroskopiaan, sillä parafiini ei kestä siihen elektronimikroskoopissa kohdistuvaa elektronisuihkua. Muoviin valetuista erikoisohuista leikkeistä on hyötyä mm. munuais- ja imusolmukennäytteiden tutkimuksessa, sillä niiden sisältävien hyvin pienten rakenteiden tarkastelu mahdollistuu erotuskyvyn lisääntyessä. Muovivalutekniikan haasteena on menetelmän työläys verrattuna dekalsifointimenetelmään. Muoviin valaminen ja muoviin valettujen leikkeiden värjääminen vie myös enemmän aikaa kuin parafiinileikkeiden vastaava käsittely. (Naukkarinen 2013b, 30, 32.)

5 THERMO SCIENTIFIC MICROM HM340E-ROTAATIOMIKROTOMI JA STS-VESIHAUDE

Thermo Scientific Microm HM340E -mikrotomi on rotaatiomikrotomi, joka soveltuu hyvin vaativienkin parafiinileikkeiden leikkaamiseen. Se on tarkoitettu päivittäiseen kliiniseen laboratoriotyöhön ja lääketieteelliseen tutkimuskäyttöön. Mikrotomin veitsi on vaakatasossa ja se pysyy paikallaan leikatessa. Kun laitteen ohjauspyörää pyöritetään, blokinpidike liikkuu pystysuunnassa veitsen terää kohti ylhäältä alas suuntautuvalla liikkeellä. Kun blokki ylittää veitsenterän, näytteestä leikkautuu ohut leike. Microm HM340E-mikrotomilla voidaan leikata 0,5 µm – 100 µm paksuisia leikkeitä. Mikrotomiin voidaan myös asentaa **Cool-cut blokinpidike**, jonka avulla näyteblokki pysyy kylmänä pildempään. Näin yksittäisen näytteen työstämiseen käytettävissä olevaa aika pitenee. (Thermo Fisher Scientific 2011a.)

Mikrotomin ohjauspaneeli sijaitsee laitteen vasemmalla puolella. Sen voi joko asettaa kiinni mikrotomiin tai sitä voi käyttää irrallaan laitteesta. Ohjauspaneelin voi myös siirtää laitteen oikealle puolelle, ja sen nupit voidaan irrottaa ja kiinnittää toiselle puolelle. Ohjauspaneelista säädetään trimmaus- ja leikepaksuudet sekä säädetään blokinpidikkeen etäisyyttä veitsenterästä. Ohjauspaneelin valikonäppäin avaa valikon, jonka kautta päästään säätämään laitteen asetuksia. Keinuliikenäppäintä painamalla voidaan ottaa käyttöön ns. keinuliiketoiminto. Keinuliiketilassa ohjauspyörää ei pyöritetä, vaan liikutetaan ylös- ja alaspäin suuntautuvien liikkein. Microm HM340E-mikrotomissa on lisäksi automaattinen retraktiotoiminto, jonka voi halutessaan valita pois käytöstä. Kun tämä toiminto on päällä, blokin pidike siirtyy leikatessa aina 60 µm taaksepäin suojaten siten näyteblokkia ja veistä. Veitsi ei tällöin kosketa tai naarmuta näytettä. Työturvallisuussyistä laitteessa on myös jarru, joka lukitsee ohjauspyörän ja blokinpidikkeen paikoilleen. Jarrun käyttäminen ehkäisee tapaturmia blokinpidikettä ja veistä käsiteltäessä. (Thermo Fisher Scientific 2011a.)

Thermo Scientific Microm STS-vesihaude koostuu mikrotomin veitsenpidikkeeseen kiinnitettävästä leikkeenkuljetinsillasta, lämmitettävästä vesialtaasta sekä lämpötilansäätöyksiköstä. Se voidaan liittää kaikkiin nykyisiin Thermo Scientificin rotaatiomikrotomimalleihin, jolloin saadaan käyttöön mikrotomityöskentelyä helpottava vesiliukuominaisuus. Leikkaaminen tapahtuu normaalisti mikrotomin ohjauspyörää pyörittämällä. Onnistuneet leikkeet katkaistaan katkaisuterällä, jolloin ne valuvat virtaavan veden mukana kuljetinsilltaa pitkin suoraan lämminvesialtaaseen, josta ne poimitaan objektilasille. Vesiliu'un avulla leikkeitä ei tarvitse erikseen suoristaa ja siirtää erillisiin vesihauteisiin, vaan ne aukeavat virtaavassa vedessä. Virtaava vesi myös estää leikkeitä vahingoittumasta. Leikkeen laatua voidaan arvioida jo ennen leikkeen katkaisemista sen auetessa virtaavassa vedessä. Lämminvesihauteen pohjassa oleva valo valaisee leikkeen alapuolelta, mikä helpottaa leikkeen laadun arviointia sen kelluessa lämminvesihauteessa. Syntyvä parafiinijäte ohjautuu virtaavan veden mukana suoraan parafiinijätekoriin, joten työskentely on siistiä. Työskentelyn päätyttyä STS-vesihauteen osat voidaan irrottaa ja puhdistaa. (Thermo Fisher Scientific 2011b.)

Vesi kiertää laitteessa vedenkiertopumpun avulla. Pumppu kuljettaa vettä kylmävesialtaasta virtausletkun kautta teränpidikkeelle ja veitselle, josta vesi valuu tasaisena virtana leikkeenkuljetinsillalle. Kuljetinsillalta vesi valuu jätesivilän läpi takaisin kylmävesialtaaseen, kun silta on ylhäällä. Kun silta

on laskettu, vesi valuu lämminvesihauteeseen. Kun lämminvesihauteen vesi saavuttaa tietyn korkeuden, ylimääräinen vesi kulkeutuu takaisin kylmävesialtaaseen useiden jätesivilöiden läpi. Näin lämminvesihauteen veden lämpötila pysyy halutulla tasolla. (Mediq Suomi Oy.)

6 KÄYTTÖOHJE OPPIMATERIAALINA

Ohje on selvitys siitä, miten tulee toimia, jotta päästään haluttuun lopputulokseen. Ohje voi olla kokonaan sanallinen tai kuvallinen, tai se voi olla tekstin ja kuvien yhdistelmä. Käyttöohjeella tarkoitetaan jonkin laitteen, koneen tai menetelmän käyttöön opastavaa ohjetta. (Kankaanpää & Piehl 2011, 295-299.) Laadimme opinnäytetyönä käyttöoppaan STS-integroidulle Microm HM340E-rotatiomikrotomille. Opas sisältää laitteen kokoamis- ja huolto-ohjeet, opastaa sillä työskentelyyn, tarjoaa ratkaisuja yleisimpiin ongelmatilanteisiin sekä kertoo histologisten leikkeiden laatukriteereistä.

Käyttöohjeilla on omanlaisensa tyypillinen rakenne. Jo ohjeen alussa on hyvä esitellä lopputulos, johon sen avulla on tarkoitus päästä. Jos käyttöohje opastaa laitteen käyttöön, laitteen osat tulee esitellä kuvien avulla. Kaikki työvaiheet, jotka täytyy suorittaa lopputulokseen pääsemiseksi, tulee esittää selkeästi ja loogisessa järjestyksessä. Koska laatimamme käyttöopas on suunnattu henkilöille, jotka eivät ole ennen käyttäneet laitetta, oppaan ymmärrettävyyteen ja selkeyteen on hyvä kiinnittää erityistä huomiota, sillä epäselvät ohjeet voivat johtaa virheisiin työskennellessä tai saattavat aiheuttaa vahinkoa laitteelle. Ne voivat olla myös työturvallisuusriski. (Kankaanpää & Piehl 2011, 295-299.)

Jotta käyttöohjetta olisi helppo lukea ja seurata, eri työvaiheet on hyvä otsikoida ja numeroida. Käyttöohje tulee jäsenellä aikajärjestyksen mukaisesti, eli ohjeen on edettävä järjestelmällisesti aina edellisestä työvaiheesta seuraavaan. Näin lukija voi käydä ohjetta kohta kerrallaan läpi ja toimia kohta kohdalta ohjeiden mukaan. On tärkeää, että ohjeessa on kuvattu jokainen työvaihe, joka täytyy suorittaa. Ohjeessa on kuitenkin oltava ainoastaan tarpeelliset asiat, eikä siinä saa olla mitään ylimääräistä. (Kankaanpää & Piehl 2011, 295-299.) Sisällön lisäksi on myös tärkeää panostaa käyttöohjeen ulkonäköön, sillä sen perusteella muodostetaan ensivaikutelma tekstistä. Käyttöohjeen tulee olla innostava ja helposti lähestyttävä, joten siinä kannattaa käyttää välejä, luetteloita, taulukoita ja kuvia. Ne tekevät ohjeesta selkeämmän ja kiinnostavamman näköisen sekä helpottavat lukemista. Sisällysluettelo ja numeroidut otsikot auttavat lukijaa löytämään tarvitsemansa tiedon sekä hahmottamaan kokonais kuvan ohjeen sisällöstä. (Alasilta 1999, 59-65.)

Laatimamme käyttöopas on suunniteltu opetuskäyttöön. Sen avulla bioanalyttikko-opiskelijat voivat harjoitella mikrotomin käyttöä ja leikkaamista koulun harjoitustunneilla. Tämän vuoksi käyttöoppaamme on myös oppimateriaalia. Oppimateriaalilla tarkoitetaan opetuksessa käytettävää materiaalia, jonka tarkoituksena on edesauttaa oppimista. Oppimateriaalin tulee tukea opettajan työtä sekä herättää oppijassa tunteita ja ajatuksia. Oppimateriaalin tärkein tavoite on saada oppija oppimaan. (Heinonen 2005, 30-31.) Oppiminen tarkoittaa opitun asian soveltamista käytäntöön. Ohjeen tehtävä on motivoida, orientoida ja ohjata toimintaa. Ohjeiden perimmäinen tarkoitus onkin opettaa, eli saada lukija ymmärtämään haluttu asia ja toimimaan sen mukaisesti. (Repo & Nuutinen 2003, 40, 138-139.)

7 OPINNÄYTETYÖN TARKOITUS JA TAVOITTEET

Opinnäytetyömme tarkoitus oli tuottaa oppimateriaalia Savonia-ammattikorkeakoulun bioanalytiikan koulutusohjelman klinisen histologian ja sytologian opintojaksolle. Teimme bioanalyttikko-opiskelijoille käyttöoppaan Thermo Scientific Microm HM340E-rotatiomikrotomille ja Microm STS-vesihauteelle. Käyttöopas on suunniteltu käytettäväksi harjoitustunneilla opetuksen rinnalla, ja sen avulla opiskelijat voivat myös työskennellä itsenäisesti laitteella. Oppaaseen sisältyy STS-integroidun Microm HM340E-mikrotomin kokoamis- ja huolto-ohjeet. Lisäksi opas ohjaa kohta kohdalta mikrotomilla työskentelyyn, tarjoaa ratkaisuja yleisimpiin leikkaamiseen ja laitteen käyttöön liittyviin ongelmatilanteisiin sekä kertoo histologisten leikkeiden laatukriteereistä.

Laadukkaiden histologisten leikkeiden leikkaaminen on tärkeä taito patologian laboratoriossa työskentelevälle bioanalyttikolle. Mitä enemmän koulussa on mahdollista harjoitella leikkaamista, sitä varmempana taidoistaan opiskelija voi lähteä työharjoittelujaksolle. Siksi opinnäytetyömme tavoitteena on tukea bioanalyttikko-opiskelijoiden mikrotomityöskentelyyn liittyvää oppimista koulun harjoitustunneilla ja siten antaa heille hyvä tieto- ja taitoperusta keskussairaalassa tapahtuvalle klinisen histologian harjoittelujaksolle. Lisäksi tavoitteena oli osallistua opetuksen kehittämistoimintaan opintojakson harjoitustuntien sujuvuuden edistämiseksi. Oma tavoitteemme oli syventää histologiseen laboratorioprosessiin liittyvää osaamistamme ja syventyä erityisesti mikrotomityöskentelyyn, joka on tärkeä osa histologista laboratorioprosessia.

8 TYÖN TOTEUTTAMINEN

8.1 Toiminnallinen opinnäytetyö

Opinnäytetyömme on luonteeltaan toiminnallinen opinnäytetyö. Toiminnallisen opinnäytetyön tarkoitus on tuottaa jokin tuotos, joka voi olla esimerkiksi opas, kirja, cd-levy tai verkkojulkaisu. Tavoitteena voi olla esimerkiksi ammatillisen toiminnan järjestäminen, järjeistäminen tai ohjeistaminen käytännön toimintaan. Toiminnallinen opinnäytetyö koostuu sekä tuotoksesta että opinnäytetyön kirjallisesta osuudesta eli opinnäytetyöraportista. (Vilkkä & Airaksinen 2003.)

Valitsimme opinnäytetyömme aiheeksi toiminnallisen opinnäytetyön, sillä halusimme osallistua opetuksen kehittämistoimintaan tuottamalla opiskelijoiden oppimista tukevaa oppimateriaalia. Opinnäytetyömme on luonteeltaan kehittämistyö, jonka tavoitteena oli tuottaa käytännön toimintaan ohjeistavaa ja käytännönläheistä opetusmateriaalia. Opinnäytetyömme tuotos on käyttöopas STS-integroidulle Microm HM340E-rotaatiomikrotomille. Tärkeä lähtökohta työllemme oli tuottaa opiskelijälähtöistä oppimateriaalia, joka soveltuisi käytettäväksi harjoitustunneilla opetuksen rinnalla. Valitsimme tuotoksemme toteutusmuodoksi painetussa muodossa olevan oppaan, jotta opiskelijat voivat helposti hyödyntää sitä harjoitellessaan mikrotomityöskentelyä.

Toiminnallisen opinnäytetyön raporttiosuuden tulee pohjautua ammattiteoriaan, siinä tulee kuvata opinnäytetyöprosessi ja sen tulee sisältää pohdintaosuus, jossa opiskelija arvioi omaa oppimistaan. Raporttiosuuden kielen tulee olla sujuvaa, ja siinä opiskelijan tulisi pystyä osoittamaan alansa asiantuntemusta yhdistämällä alansa teoreettinen tietoperusta ammatilliseen taitoon. (Vilkkä & Airaksinen 2003.) Opinnäytetyömme kirjallisessa osuudessa kuvaamme opinnäytetyöprosessimme etenemisen, perustelemme työskentelyssämme ja tuotoksemme toteuttamistavassa tekemiämme ratkaisuja sekä arvioimme omaa oppimistamme ja ammatillista kasvuamme. Raporttiosuudessa olemme pyrkineet käyttämään mahdollisimman luotettavaa lähdetietoa ja kokoamaan työmme teoriaosuuden sellaiseksi, että se liittyy tiiviisti opinnäytetyömme tuotokseen tukien näin lukijan käsitystä aiheeseen liittyvästä asiantuntemuksestamme.

8.2 Opinnäytetyöprosessin eteneminen

Saimme opinnäytetyömme aiheen kliinisen histologian ja sytologian opettaja Jaana Hoffrénilta syksyllä 2013. Halusimme liittää opinnäytetyömme aiheen bioanalytiikan erikoisaloista kliiniseen histologiaan, koska olemme erityisen kiinnostuneita juuri siitä. Opettaja kertoi, että koululle oltiin hankkimassa uutta STS-integroitua Microm HM340E -rotaatiomikrotomia, jolle tarvittiin suomenkielinen ja yksinkertaistettu käyttöohje. Aihe kiinnosti meitä ja se oli toteuttamiskelpoinen, joten otimme sen vastaan. Pääsimme keväällä 2014 kokeilemaan vastaavalla laitteella työskentelyä työharjoittelujaksoillamme. Kokenut työntekijä opasti meitä laitteella työskentelyyn ja laitteen huoltamiseen. Hänen kanssaan ajauksia vaihtaessamme saimme ensimmäisiä ideoita käyttöopastamme ja sen toteutustapaa varten.

Työharjoittelun jälkeen aloitimme opinnäytetyömme työstämisen, ja aihekuvauksemme hyväksyttiin syksyllä 2014. Tämän jälkeen ryhdyimme kirjoittamaan työsuunnitelmaa, joka hyväksyttiin myöhemmin samana syksynä. Työsuunnitelman hyväksymisen jälkeen pääsimme harjoittelemaan laitteen käyttöä koululla. Harjoittelimme laitteen kokoamista, sillä leikkaamista sekä puhdistamista ja huoltamista. Saimme apua laitteen käyttöön liittyen sekä ohjaavalta opettajaltamme että laitteen maahantuojaan (Mediq Suomi Oy) edustajan meille toimittamista valmistajan ohjemateriaaleista.

Syksyn aikana teimme laitteelle lyhen pikaohjeen, jonka toimivuutta testasimme käytännössä bio-analytiikka-opiskelijoiden kliinisen histologian opintojakson harjoitustunneilla. A4-kokoisen pikaohjeen etusivulla opastettiin vaihe vaiheelta näyteblokin trimmaaminen ja leikkaaminen. Pikaohjeen kääntöpuolella kerrottiin myös lyhyesti leikkaamisen ongelmatilanteista, ratkaisusta ja histologisten leikkeiden laatukriteereistä. Seurasimme miten opiskelijat työskentelivät laitteella kyseisen pikaohjeen avulla. Lisäksi opetimme heille mikrotomityöskentelyä ja leikkaamista käytännössä. Näin saimme käsityksen siitä, millainen opiskelijoiden tieto- ja taitotaso mikrotomityöskentelyyn liittyen on, kun leikkaamista harjoitellaan ensimmäisen kerran koulussa ja kuinka opiskelijat hyödynsivät kirjoitettuja ohjeita työskentelyssään. Tätä kautta lähdimme miettimään, millaisia käyttöohjeita opiskelijat tarvitsevat ja millainen käyttöopas soveltuisi parhaiten harjoitustunneilla käytettäväksi. Huomasimme esimerkiksi, että kirjoitetut ohjeet tarvitsevat tuekseen selkeitä kuvia. Ohjeiden olisi myös hyvä olla lyhyitä ja edetä vaihe vaiheelta eteenpäin, jotta ne on helppo sisäistää. Kysyimme myös suoraan opiskelijoilta, mitä he toivoivat käyttöoppaalta ja saimme palautetta pikaohjeen toimivuudesta. Opiskelijat kokivat ohjeemme toimivaksi ja korostivat kuvien merkitystä ohjeiden ymmärrettävyyden kannalta.

Kuvasimme koululla STS-integroitua mikrotomia, sen osia ja laitteella työskentelemistä useaan otteeseen syksyn 2014 ja kevään 2015 aikana, jotta saimme otettua selkeitä valokuvia opasta varten. Käyttöopasta kootessamme kiinnitimme huomiota hyvältä käyttöohjeelta vaadittaviin ominaisuuksiin ja rakenteeseen. Käyttöopas tehtiin Microsoft Word tekstinkäsittelyohjelmalla. Kuvat rajattiin sopiviksi Adobe Photoshop kuvankäsittelyohjelmalla ja liitettiin tekstinkäsittelyohjelmaan. Kun saimme koottua käyttöoppaan mielestämme valmiiksi, lähetimme sen luettavaksi ja arvioitavaksi ohjaavalle opettajallemme sekä laitteen maahantuojan edustajalle. Opettaja ja edustaja olivat molemmat hyvin tyytyväisiä oppaaseemme ja saimme siitä hyvää palautetta. Laitteen edustajan pyynnöstä teimme vielä pieniä korjauksia ja muutoksia oppaaseen. Sekä tuotos että raporttiosuus valmistuivat helmikuussa 2015, jonka jälkeen opinnäytetyömme eteni viimeistelyvaiheeseen.

9 POHDINTA

9.1 Työn eettisyys ja luotettavuus

Bioanalyytikon eettisten ohjeiden mukaan bioanalyytikon on kunnioitettava biologisen näytemateriaalin luovuttajan yksityisyyttä ja oikeuksia sekä noudatettava salassapitovelvollisuutta (Suomen Bioanalytikkoliitto 2011). Opinnäytetyöhöme ei liity eettisiä ongelmia, sillä harjoittelu- ja valokuvamateriaalina käytimme bioanalytikko-opiskelijoiden harjoitustöissä valamia näyteblokkeja. Näytteissä ei ollut potilastietoja tai muita sellaisia tietoja, joiden vuoksi potilasturvallisuus olisi vaarantunut.

Suomen Bioanalytikkoliiton mukaan bioanalytikoilla on myös vastuu ammatin ja koulutuksen kehittämisestä. Tämän opinnäytetyön kautta olemme osallistuneet ammattialamme koulutuksen kehittämiseen tuottamalla oppimateriaalia. Samalla olemme vastuussa tuottamamme materiaalin ja opinnäytetyömme kirjallisen osuuden sisältämän tiedon oikeellisuudesta ja luotettavuudesta.

Kokosimme tuottamamme käyttöoppaan pitkälti laitevalmistajan omien ohjeiden pohjalta. Laitevalmistajan oma tieto STS-integroidun Microm HM340E-mikrotomin toiminnasta ja käytöstä on kuitenkin luotettavinta mahdollista tietoa, jota juuri kyseisen laitteen käytöstä on saatavilla. Siksi kokosimme laitteen osia, käyttöä ja huoltamista käsittelevät luvut valmistajan omien käyttöohjeiden pohjalta yksinkertaistettuun, opiskelijoiden harjoituskäyttöön soveltuvaan muotoon. Muu oppaaseen kokoamamme tieto on peräisin työn kirjallisessa osuudessa käytetyistä, luotettaviksi katsomistamme lähteistä.

Työmme kirjallisessa osuudessa periaatteenamme oli käyttää mahdollisimman uusia ja luotettavia julkaisuja lähdetietonamme. Tämä periaate toteutui käytännössä kuitenkin vain osittain, sillä aihealuettamme käsitteleviä julkaisuja on saatavilla niukasti. Kliinisen histologian laboratoriotyö on muuttunut vain vähän viimeisten vuosikymmenten aikana ja vanhat menetelmät ovat yhä käytössä, joskin joitakin uusiakin menetelmiä on noussut vanhojen rinnalle. Tämä selittää osaltaan sitä, miksi histologian perustekniikoista on ollut vaikeaa löytää monipuolisesti tietoa. Suurin osa käyttämistämme lähteistä on oppikirjoja, mutta tieto ei ole vanhentunut ja on pääosin peräisin tuoreista julkaisuista. Käytimme lisäksi tieteellisiä artikkeleita tukemaan työmme luotettavuutta. Suomenkielisistä artikkeleista saimme hyvän käsityksen patologian laboratoriotoiminnasta Suomessa.

9.2 Tavoitteiden toteutuminen

Opinnäytetyömme tarkoitus oli laatia selkeä ja käytännöllinen käyttöopas STS-integroidulle Microm HM340E-rotatiomikrotomille. Tavoitteenamme oli, että käyttöopas mahdollistaa opiskelijan itsenäisen työskentelyn laitteella opastaen sen perustoimintojen käyttöön selkeiden kuvien ja kirjoitettujen ohjeiden avulla. Alkuperäisen suunnitelmamme mukaan käyttöopas olisi ollut lyhyt, muutaman sivun mittainen laminoitu vihkonen. Ryhdyimme työstämään käyttöopasta harjoiteltuamme ensin laitteen käyttöä itsenäisesti ja seurattuamme bioanalytikko-opiskelijoiden työskentelyä. Huomasimme pian,

että ohjeesta oli tulossa aluksi suunnittelemaamme laajempi. Oli selvää, että jo kuvien lisääminen oppaaseen tulisi kasvattamaan sen sivumäärää huomattavasti ajattelemaamme laajemmaksi. Lisäksi koska tärkeä päämäärämme oli tehdä opiskelijoiden käyttöön soveltuva ja heidän oppimistaan tukeva opas, halusimme sisällyttää oppaaseen laitteen käyttöohjeiden lisäksi tietoa histologisten leikkeiden laatukriteereistä ja tarjota ratkaisuja mikrotomityöskentelyssä usein eteen tuleviin ongelmatilanteisiin. Mikrotomityöskentelyn epäonnistumiseen löytyy monia virhelähteitä, ja aloittelijan ei välttämättä ole helppo hahmottaa histologisille leikkeille asetettuja laatukriteerejä. Siksi uskomme opiskelijoiden hyötyvän näistä lisäohjeista koulun harjoitustunneilla, joiden aikana he harjoittelevat mikrotomityöskentelyä ensimmäistä kertaa.

Kun suunnittelimme käyttöoppaan rakennetta ja ulkoasua, tärkeitä päämääriämme olivat ohjeen selkeä visuaalinen ilme, ohjeiden helppolukuisuus ja niiden toimivuus käytännössä. Halusimme käyttää paljon kuvia kirjoitettujen ohjeiden tukena, jotta ohjeiden virhetulkinnan riski olisi mahdollisimman pieni. Laitteessa on paljon irrotettavia osia, ja erityisesti laitteen kokoaminen on ensikertalaiselle haastavaa ilman kuvia. Haasteenamme oli myös kirjoittaa ohje siten, että työvaiheet etenevät loogisesti ja aikajärjestyksessä. Kiinnitimme tähän erityistä huomiota ja testasimme laatimiemme ohjeiden toimivuutta itse moneen otteeseen käytännössä. Päätimme ryhmitellä eri työvaiheet otsikoitain, jotta oppaan sisällysluetteloa voidaan helposti käyttää kulloinkin tarvittavan tiedon etsimiseen.

Opettajalla on harjoitustunneilla usein suuriakin ryhmiä opiskelijoita ohjattavanaan, eikä yksilölliseen ohjaamiseen välttämättä jää paljon aikaa. Uskomme oppaamme helpottavan opiskelijoiden ja opettajan ajankäyttöä harjoitustunneilla. Oppaan avulla opiskelijat voivat itse ratkaista mikrotomityöskentelyssä syntyviä käytännön ongelmia, sillä useimmat niistä ovat helposti ratkaistavissa. Opettajan ei tällöin tarvitse käyttää aikaa jokaisen opiskelijan yksilölliseen ohjaamiseen mikrotomin käyttöön liittyen, ja opiskelijoiden on mahdollista keskittyä enemmän itse opetettavan asian eli leikkaamisen harjoitteluun. Mitä enemmän opiskelijan on koulussa mahdollista harjoitella leikkaamista, sitä varmempana taidoistaan hän voi lähteä patologian laboratoriossa tapahtuvalle työharjoittelujaksolle.

Uskomme, että onnistuimme hyvin toteuttamaan opinnäytetyöllemme asettamamme tavoitteet ja ehkä jopa ylittämään ne, sillä oppaastamme tuli suunnittelemaamme monipuolisempi ja laajempi kokonaisuus. Oppaan toimivuutta on testattu käytännössä ja sen toimivuutta on arvioinut sekä laitteen edustaja että ohjaava opettajamme. Tekemämme opas on meistä selkeä, loogisesti etenevä ja opiskelijoiden käyttöön hyvin soveltuva kokonaisuus. Olisi tietysti ollut hyvä päästä seuraamaan, miten bioanalyttikko-opiskelijat käyttävät valmista opasta, mutta saimme kuitenkin hyvää palautetta opiskelijoilta jo tekemästämme pikaohjeesta. Lisäksi heidän työskentelynsä seuraaminen koulun harjoitustunneilla näytti suunnan siihen, millainen opas soveltuu parhaiten juuri opiskelijoiden käyttöön.

9.3 Oman oppimisen ja ammatillisen osaamisen kehittymisen arviointi

Tämän opinnäytetyön kautta olemme perehtyneet histologiseen laboratorioprosessiin ja teoriaan prosessissa käytettyjen menetelmien taustalla. Olemme myös perehtyneet bioanalyttikon työtehtäviin kliinisen histologian laboratoriossa sekä erityisesti syventäneet tietämystämme ja käytännön

osaamistamme mikrotomityöskentelyyn liittyen. Tämä on kehittänyt ammatillista kasvuamme ja erikoisosaamistamme liittyen kliiniseen histologiaan. Samalla olemme osallistuneet opetuksen kehittämistoimintaan tuottamalla opetusmateriaalia. Toivomme, että tuottamamme opetusmateriaali edistää bioanalyttikko-opiskelijoiden ammatillista kasvua ja patologian laboratoriossa tarvittavia työelämän taitoja, niin kuin opetusmateriaalin tekeminen edisti omiamme.

Opinnäytetyöprosessin aikana opimme myös suunnittelemaan ja toteuttamaan käyttöoppaan opetusmateriaaliksi, toteuttamaan projektin sekä kirjoittamaan tieteellistä tekstiä. Opinnäytetyöprosessin ajan teimme yhteistyötä, sovimme työnjaosta ja suunnittelimme ajankäyttöämme siten, että työstimme opinnäytetyötämme tasaisessa tahdissa. Näin pysyimme aikataulussa ja opinnäytetyöprosessin etenemistä oli helppo seurata. Prosessin tekeminen hioi myös tiimityötaitojamme.

Aiheen rajaaminen histologiseen laboratorioprosessiin ja mikrotomiaan diagnostisen patologian osa-alueina oli meille selkeä valinta. Mikrotomia on oppi mikrotomityöskentelystä, joka on tärkeä histologisen laboratorioprosessin työvaihe. Teoriatiedon etsiminen ja hyödyntäminen sen sijaan oli vaikeampaa, mutta tiedonhakutaitomme kehittyivät informaation avustuksella. Samalla opimme arvioimaan löytämämme tiedon hyödynnettävyyttä ja luotettavuutta kriittisesti. Löytämämme lähdemateriaali oli suurimmaksi osaksi englanninkielistä, joten terminologian kääntäminen suomeksi oli haastavaa. Tätä kautta kuitenkin kehitimme kielellisiä taitojamme ja opimme aiheeseemme liittyvää englanninkielistä terminologiaa.

Kaiken kaikkiaan opinnäytetyön tekeminen oli laaja ja vaativa prosessi, joka on haastanut ja ohjannut meitä kehittymään tiellämme bioanalytiikan asiantuntijoiksi monin tavoin.

LÄHTEET

- Alasilta, A. 1999. *Näin kirjoitat tehokkaasti: viestintäopas työelämän kirjoittajille*. Tampere: Tammer-Paino Oy.
- Bancroft, J.D. & Layton, C. The hematoxylin and eosin. Teoksessa: Suvarna, S.K., Layton, C. & Bancroft, J.D. 2013. *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques*. 7. painos. Churchill Livingstone, 173-186.
- Buesa, R.J. 2007a. Histology safety: now and then. *Annals of Diagnostic Pathology*. [verkkolehti]. 2007, nro 11, 334-339 [viitattu 27.1.2015]. Saatavissa: <http://www.sciencedirect.com/>
- Buesa, R.J. 2007b. Histology: A Unique Area of the Medical Laboratory. *Annals of Diagnostic Pathology*. [verkkolehti]. 2007, nro 11, 137-141 [viitattu 27.1.2015]. Saatavissa: <http://www.sciencedirect.com/>
- Cano-Sánchez, J., Campo-Trapero, J., Gonzalo-Lafuente, J.C., Moreno-López, L.A. & Bascones-Martínez, A. 2005. Undecalcified bone samples: a description of the technique and its utility based on the literature. *Oral Medicine and Pathology*. [verkkolehti]. 2005, nro 10, 74-87 [viitattu 27.1.2015]. Saatavissa: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>
- Chandak, T., Chaudhary, M. & Chandak, V. 2012. *Microtomy: Microtome and its applications*. Saarbrücken: LAP Lambert Academic Publishing.
- Cook, D.J. 1998. *Cellular Pathology*. Biomedical Sciences Explained. Avon: The Bath Press plc.
- Dunk, L. 2013. Managing the laboratory. Teoksessa: Suvarna, S.K., Layton, C. & Bancroft, J.D. 2013. *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques*. 7. painos. Churchill Livingstone, 1-10.
- Helin, H. 1995. Histologisen näytteen laaduntarkkailu. *Moodi*. 1995, nro 1, 66.
- Huhtakallio, J. 1995. *Patologian perusteet ja menetelmät*. Oulu: Oulun Liikekirjapaino.
- Heinonen, J-P. 2005. *Opetussuunnitelmat vai oppimateriaalit*. Helsingin yliopisto. Soveltavan kasvatustieteen laitos. Tutkimuksia 257. [väitöskirja]. [Viitattu: 20.1.2015]. Saatavissa: <http://ethesis.helsinki.fi/julkaisut/kay/sovel/vk/heinonen/opetussu.pdf>
- Hurbain, I. & Sachse, M. 2011. The future is cold: cryo-preparation methods for transmission electron microscopy of cells. *Biology of the Cell*. [verkkolehti]. 2011 nro 9, 405-420 [viitattu 27.1.2015]. Saatavissa: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>

International Academy of Pathology. 2010. *Patologian laboratorion toimintajärjestelmä*. [verkkopublication]. [viitattu 10.2.2015]. Saatavissa:

<http://www.labquality.org/LQ/pdf.aspx?dir=3&path=Qualitor/Patologian%20laatutunnuksen%20kriteerit%20423.pdf>

Junqueira, L.C., Carneiro, J. & Kelley R. O. 1998. *Basic Histology*. 9.painos. New York: McGraw-Hill companies.

Kankaanpää, S. & Piehl, A. 2011. *Tekstintekijän käsikirja: Opas työssä kirjoittaville*. Helsinki: Suomen Yrityskirjat Oy.

Kiernan, J.A. 2008. *Histological and histochemical methods: Theory and practice*. 4. painos. Bloxham: Scion Publishing Limited.

Lehto, V-P. 2012. Sairautta aiheuttavat tekijät. Teoksessa Mäkinen, M., Carpén, O., Kosma, V-M., Lehto, V-P., Paavonen, T., Stenbäck F. (toim.) *Patologia*. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 16.

Lehto, V-P & Stenbäck, F. 2012. Sairauksien syiden tutkiminen. Teoksessa Mäkinen, M., Carpén, O., Kosma, V-M., Lehto, V-P., Paavonen, T., Stenbäck F. (toim.) *Patologia*. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 95.

Mediq Suomi Oy. *Microm STS-vesihaude*. Käyttöohje.

Myhre, E. 1993. *Patologia*. Keuruu: Kustannusosakeyhtiö Otavan painolaitokset.

Mäkinen, M. 2012a. Histopatologinen diagnostiikka. Teoksessa Mäkinen, M., Carpén, O., Kosma, V-M., Lehto, V-P., Paavonen, T., Stenbäck F. (toim.) *Patologia*. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 1125.

Mäkinen, M. 2012b. Patologisanatominen lausunto ja diagnoosi. Teoksessa Mäkinen, M., Carpén, O., Kosma, V-M., Lehto, V-P., Paavonen, T., Stenbäck F. (toim.) *Patologia*. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 1130.

Mäkinen, M. 2012c. Kudosnäytteiden eri tyypit. Teoksessa Mäkinen, M., Carpén, O., Kosma, V-M., Lehto, V-P., Paavonen, T., Stenbäck F. (toim.) *Patologia*. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 1125-1127.

Mäkinen, M. 2012d. Yleisimpien näytteiden käsittelyyn liittyviä ohjeita. Teoksessa Mäkinen, M., Carpén, O., Kosma, V-M., Lehto, V-P., Paavonen, T., Stenbäck F. (toim.) *Patologia*. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 1130-1133.

- Mäkinen, M. 2012e. Näytteiden käsittely laboratoriossa. Teoksessa Mäkinen, M., Carpén, O., Kosma, V-M., Lehto, V-P., Paavonen, T., Stenbäck F. (toim.) *Patologia*. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 1127-1130.
- Mäkinen, M. & Lehto, V-P. 2012a. Patologian kaksoisluonne ja integratiivinen lääketiede. Teoksessa Mäkinen, M., Carpén, O., Kosma, V-M., Lehto, V-P., Paavonen, T., Stenbäck F. (toim.) *Patologia*. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 11.
- Mäkinen, M. & Lehto, V-P. 2012b. Modernin patologian synty. Teoksessa Mäkinen, M., Carpén, O., Kosma, V-M., Lehto, V-P., Paavonen, T., Stenbäck F. (toim.) *Patologia*. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 11.
- Naukkarinen, A. 2013a. Histologisen näytteen kiinnittäminen. Teoksessa Naukkarinen, A. 2013. (toim.) *Histologiset menetelmät*. 10. painos. Luentomoniste, 8-11.
- Naukkarinen, A. 2013b. Muovivalutekniikat. Teoksessa Naukkarinen, A. 2013. (toim.) *Histologiset menetelmät*. 10. painos. Luentomoniste, 30-33.
- Naukkarinen, A. 2013c. Histologisten värjäysten teoriaa. Teoksessa Naukkarinen, A. 2013. (toim.) *Histologiset menetelmät*. 10. painos. Luentomoniste, 34-38.
- Niskanen, M. 2013a. Histologisen näytteen prosessointi ja leikkaaminen. Teoksessa Naukkarinen, A. 2013. (toim.) *Histologiset menetelmät*. 10. painos. Luentomoniste, 12-21.
- Niskanen, M. 2013b. Kudosten jäädyttäminen ja jääleikkeet. Teoksessa Naukkarinen, A. 2013. (toim.) *Histologiset menetelmät*. 10. painos. Luentomoniste, 22-25.
- Repo, I. & Nuutinen, T. 2003. *Viestintätaito. Opas aikuisopiskelun ja työelämän vuorovaikutustilanteisiin*. Keuruu: Otavan Kirjapaino Oy.
- Salomaa, L. 2013. Riskienarviointi patologian laboratoriossa – mitä havaittiin, mihin puututtiin ja mitä korjattiin. *Bioanalyttikkolehti* 2013, nro 29-31.
- Spencer, L.T., Bancroft, J.D. & Jones, W.G. 2013. Tissue processing. Teoksessa: Suvarna, S.K., Layton, C. & Bancroft, J.D. 2013. *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques*. 7. painos. Churchill Livingstone, 105-123.
- Spencer, L.T. & Bancroft, J.D. 2013. Microtomy: Paraffin and frozen. Teoksessa: Suvarna, S.K., Layton, C. & Bancroft, J.D. 2013. *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques*. 7. painos. Churchill Livingstone, 126-138.

Suomen Bioanalytikkoliitto ry. 2011. *Bioanalytikon, laboratoriohoitajan eettiset ohjeet*. [verkkojulkaisu]. [viitattu 5.10.2014]. Saatavissa:

[http://www.bioanalytikkoliitto.fi/@Bin/220004/Eettiset+ohjeet+-suomi+2011+\(1\).pdf](http://www.bioanalytikkoliitto.fi/@Bin/220004/Eettiset+ohjeet+-suomi+2011+(1).pdf)

Suomen Bioanalytikkoliitto ry. 2014. *Klininen histologia ja sytologia*. [verkkojulkaisu]. [viitattu 3.10.2014]. Saatavissa:

http://www.bioanalytikkoliitto.fi/bioanalytikon_ammatti/erikoisalat/klininen_histologia_ja_sytologi

Suvarna, S.K. & Layton, C. 2013. The gross room/surgical cut-up. Teoksessa: Suvarna, S.K., Layton, C. & Bancroft, J.D. 2013. *Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques*. 7. painos. Churchill Livingstone, 95-103.

Söderström, M. 2015. Preanalyttiset virhelähteet patologian diagnostiikassa. *Moodi*. 2015, nro 1, 19-21.

Thermo Fisher Scientific. 2011a. *Microm HM340E: Rotary Microtome*. Operation Manual.

Thermo Fisher Scientific. 2011b. *Section Transfer System Microm STS for Rotary Microtomes*. Instruction Manual.

Tolppanen, M. 2011. Poikkeamat patologian laboratoriossa. *Moodi*. 2011, nro 6, 194-198.

Työterveyshuoltolaki L 1383/2001. Finlex. Lainsäädäntö [viitattu 10.2.2015]. Saatavissa:

<https://www.finlex.fi/fi/laki/ajantasa/2001/20011383#L3P12>

Työterveyslaitos. *Työkierron toteuttaminen*. [verkkojulkaisu]. [viitattu 10.2.2015]. Saatavissa:

<http://www.ttl.fi/fi/ratkaisupankki/Sivut/details.aspx?luokka=Ergonomia&item=221>

Työturvallisuuslaki L 738/2002. Finlex. Lainsäädäntö [viitattu 10.2.2015]. Saatavissa:

<http://www.finlex.fi/fi/laki/alkup/2002/20020738#Pidp1218192>

Valtioneuvoston asetus kemiallisista tekijöistä työssä A 715/2001. Finlex. Lainsäädäntö [viitattu 10.2.2015]. Saatavissa:

<https://www.finlex.fi/fi/laki/ajantasa/2001/20010715?search%5Btype%5D=pika&search%5Bpika%5D=asetus%20kemiallisista%20tekij%C3%B6ist%C3%A4%20ty%C3%B6ss%C3%A4>

Vilkka, H. & Airaksinen, T. 2003. *Toiminnallinen opinnäytetyö. Ohjaajan opas*. Kustannusosakeyhtiö Tammi.

LIITE 1: KÄYTTÖOPAS

Käyttöopas

Thermo Scientific Microm HM340E
-mikrotomille ja STS-vesihauteelle

Katja Juntto & Satu Kontinen

Thermo
S C I E N T I F I C



SAVONIA
AMMATTIKORKEAKOULU

Sisältö

1	Johdanto.....	3
2	Työturvallisuus.....	4
3	Thermo Scientific Microm HM340E -rotaatiomikrotomi	4
3.1	Mikrotomin osat	5
3.2	Ohjauspaneeli	6
4	Thermo Scientific Microm STS-vesihaude.....	7
4.1	STS-vesihauteen osat.....	8
4.2	Laitteen kokoaminen	9
4.2.1	Veitsenpidikkeen ja kuljetinsillan kokoaminen	10
4.2.2	Leikkauskulman säätäminen	11
4.2.3	Virtausletku.....	11
4.2.4	Lämmönsäätöyksikkö	12
5	Mikrotomilla työskentely	13
5.1	Esivalmistelut	14
5.1.1	Veitsen asettaminen	15
5.1.2	Leike- ja trimmauspaksuuksien säätäminen	15
5.2	Trimmaaminen	16
5.2.1	Trimmaamisen työvaiheet	17
5.3	Leikkaaminen	18
5.4	Hyvän leikkeen kriteerit	20
5.4	Ratkaisuja leikkaamisen ongelmatilanteisiin.....	21
6	Kun lopetat työskentelyn.....	22
6.1	Veitsen irrottaminen.....	22
6.2	STS-vesihauteen puhdistus ja huolto	23
7	Lähteet.....	25

1 Johdanto

Tämä käyttöopas on tarkoitettu käytettäväksi Savonia-ammattikorkeakoulun bioanalytiikan koulutusohjelman kliinisen histologian harjoitustunneilla. Opas on suunniteltu mikrotomityöskentelyn vasta-alkajalle ja se on tarkoitettu ensisijaisesti bioanalyttikko-opiskelijoiden käyttöön. Oppaaseen sisältyy Thermo Scientific Microm STS -vesihauteella integroidun Thermo Scientific Microm HM340E -rotaatiomikrotomin kokoamis- ja huolto-ohjeet. Lisäksi opas ohjaa kohta kohdalta mikrotomilla työskentelyyn, tarjoaa ratkaisuja yleisimpiin ongelmatilanteisiin sekä kertoo histologisten leikkeiden laatukriteereistä.

Mikrotomityöskentely on tärkeä osa laboratoriohoitajan työtä kliinisen histologian laboratoriossa. Leikkaaminen on yhä pääosin käsityötä, ja se vaatii kädentaitoja ja harjaantumista. Leikkaamaan ei voi oppia kirjoitetuista ohjeista, vaan se on taito, jonka voi oppia vain harjoittelemalla. Toivomme kuitenkin tämän käyttäjän oppaan tarjoavan hyviä käytännön vinkkejä leikkaamiseen.

Tämän oppaan ei ole tarkoitus korvata valmistajan omaa käyttöohjetta. Tarvittaessa valmistajan omasta käyttöohjeesta löytyy lisää tietoa, ohjeita ja ratkaisuja laitteen käyttöön liittyen.

Tutustuthan käyttöohjeisiin, ennen kuin aloitat työskentelyn HM340E -mikrotomilla, jotta osaat käyttää laitetta oikein ja turvallisesti.

2 Työturvallisuus

Huomioi aina seuraavat turvallisuusasiat, kun työskentelet laitteella.



Turvallisuussyistä käytä aina jarrua ja veitsen suojaa, kun käsittelet blokkia tai blokin pidikettä. Jarrun ollessa päällä ohjauspyörä ja blokin pidike lukkiutuvat paikoilleen. Jarruvipu löytyy ohjauspyörän alta.



Mikrotomiveitset ovat todella teräviä ja aiheuttavat helposti haavoja. Ole aina erityisen varovainen, kun käsittelet niitä.



Mikrotomityöskentely on toistotyötä, jossa sama työasento ja työvaiheet toistuvat. Siksi on tärkeää huolehtia työergonomiasta.



Käsiteltävät näytteet ovat mahdollisesti tartuntavaarallisia.

3 Thermo Scientific Microm HM340E -rotaatiomikrotomi

Thermo Scientific Microm HM340E on rotaatiomikrotomi, joka soveltuu hyvin vaativienkin parafiinileikkeiden leikkaamiseen. Rotaatiomikrotomissa veitsi on vaakatasossa ja se pysyy paikallaan. Kun laitteen ohjauspyörää pyöritetään, blokin pidike liikkuu pystysuunnassa veitsen terää kohti. Kun blokki ylittää veitsenterän, näyte leikkaantuu ohueksi leikkeeksi. Microm HM340E -mikrotomilla voidaan leikata 0,5 µm – 100 µm paksuisia leikkeitä. Yleisimmin käytetty leikepaksuus on kuitenkin 1-10 µm.

Mikrotomin ohjauspaneeli sijaitsee laitteen vasemmalla puolella. Sen voi joko asettaa kiinni mikrotomiin tai sitä voi käyttää irrallaan laitteesta. Ohjauspaneelistä säädetään trimmaus- ja leikepaksuudet, ja sen avulla voidaan muuttaa myös muita asetuksia. Ohjauspaneelin käyttöön opastetaan omassa luvussaan (3.2). Microm HM340E -mikrotomissa on myös jarru, joka lukitsee ohjauspyörän ja blokinpidikkeen paikoilleen. Jarrun käyttäminen ehkäisee tapaturmia blokinpidikettä ja veistä käsiteltäessä. Mikrotomin osat esitellään omassa luvussaan (3.1.).

3.1 Mikrotomin osat



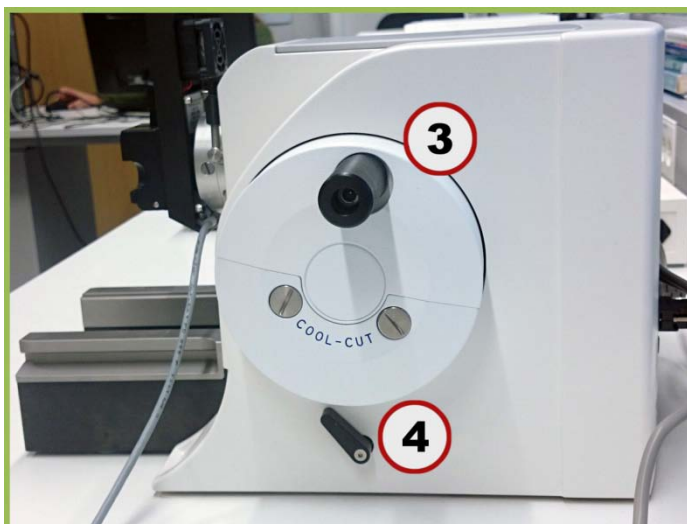
Kuva 1. Microm HM340E.

1. Ohjauspaneeli

Ohjauspaneelin käyttöön ja ominaisuuksiin opastetaan tarkemmin seuraavan sivun luvussa 3.2.

2. Blokin pidike

Pidikkeessä on Cool-Cut ominaisuus, joka kylmentää näyteblokkia.



Kuva 2. Microm HM340E.

3. Ohjauspyörä

Ohjauspyörää pyöritetään käyttäjästä poispäin suuntautuvalla liikkeellä. Yhdellä pyörähdyksellä blokin pidike lähestyy terää aina yhden leikepaksuuden verran.

4. Jarruvipu

Kun tämä vipu on yläasennossa, jarru on päällä. Tällöin sekä ohjauspyörä että blokin pidike lukkiutuvat paikoilleen. Jarru vapautetaan kääntämällä vipu ala-asentoon.

3.2 Ohjauspaneeli

Nuppi A. Trim/Feed

Tätä nuppia käytetään leikkausasetusten säätämiseen. Painamalla nuppia voidaan valita asetukseksi joko Trim tai Feed. Trim-asetusta käytetään blokin trimmaamiseen ja Feed-asetusta varsinaisten leikkeiden leikkaamiseen. Sekä trimmauspaksuus että leikepaksuus voidaan säätää sopiviksi pyörittämällä nuppia.

Nuppi B. Karkeasyöttö

Tätä nuppia pyörittämällä voidaan säätää blokin pidikkeen etäisyyttä suhteessa terään. Kun nuppia pyöritetään käyttäjästä poispäin, pidike siirtyy kauemmas terästä. Käyttäjää kohti pyöritettäessä pidike taas lähestyy terää. Kun nuppia painetaan, blokin pidike siirtyy aina yhden valitun trimmi- tai leikepaksuuden verran kohti terää.

Näppäin 1. Valikkonäppäin

Tämä näppäin avaa valikon, josta löytyvät ohjauspaneelin näytön asetukset, retraktioasetukset, kielivalikko, ajan ja päivämäärän asetukset sekä tehdasasetuksien palauttaminen.

Näppäin 2. Vieritysnäppäin

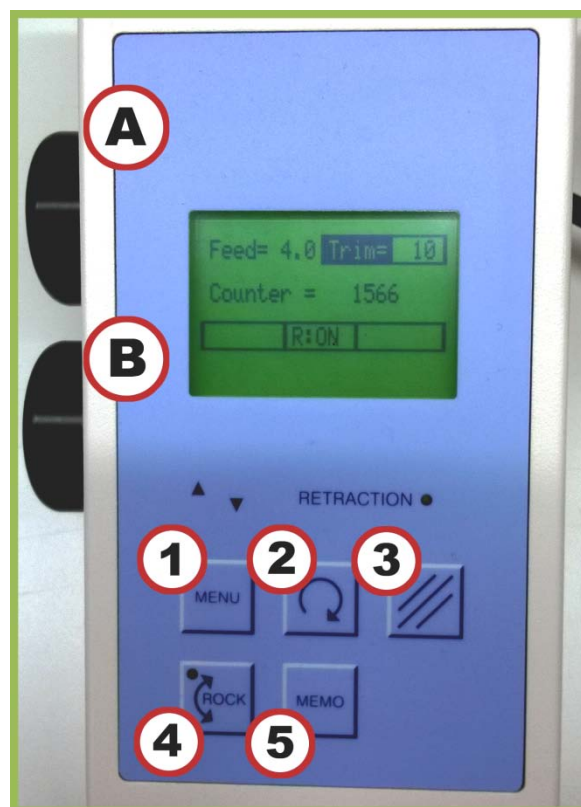
Ohjauspaneelin näytön keskiriville voidaan vaihtoehtoisesti asettaa näkyviin joko leikelaskuri (counter), leikattujen leikkeiden paksuuden summa (sum of section thicknesses) tai jäljellä oleva elektroninen syöttöalie (remaining travel to the front end position). Tämä tapahtuu painamalla näppäintä 2.

Näppäin 3. Nollausnäppäin

Tätä näppäintä painamalla voidaan nollata leikelaskuri tai leikepaksuuksien summa.

Näppäin 4. Keinuliikennäppäin

Tätä näppäintä painamalla voidaan ottaa käyttöön ns. keinuliiketoiminto. Keinuliiketilassa ohjauspyörää ei pyöritetä, vaan liikutetaan ylös- ja alaspäin suuntautuvien liikkein. Toiminto kytketään pois painamalla näppäintä uudelleen.



Kuva 3. Ohjauspaneeli.

Näppäin 5. Muistinäppäin

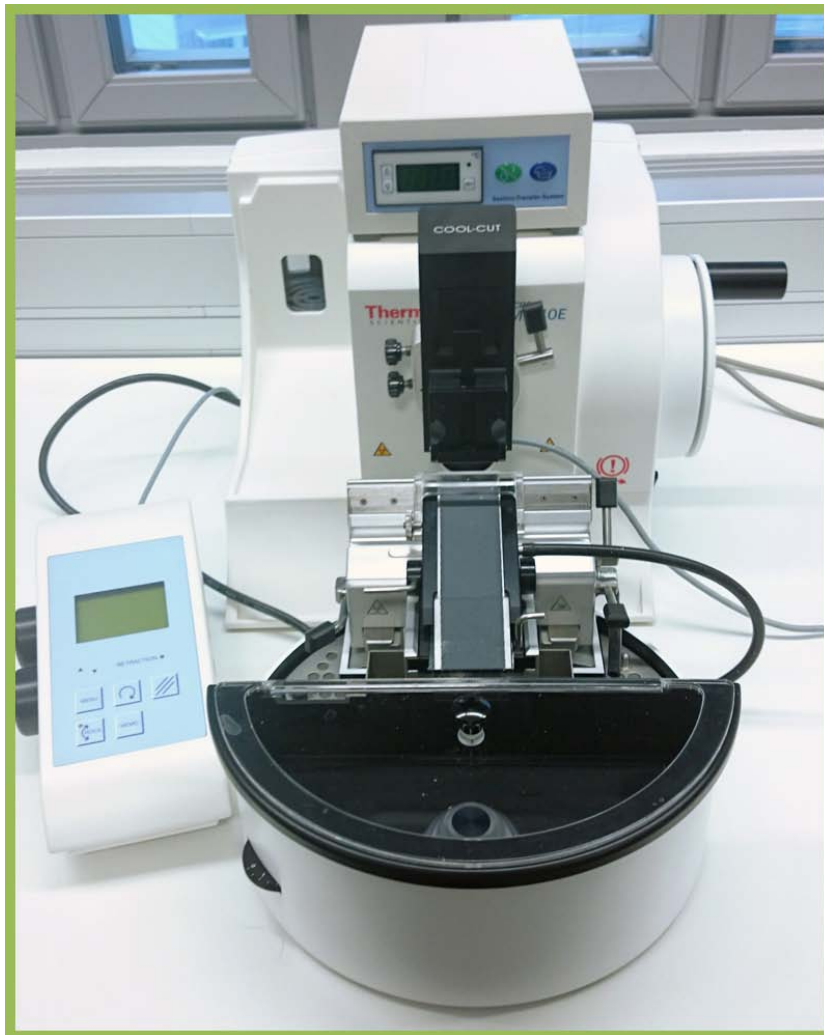
Tämä näppäin tallentaa laitteen muistiin blokin pidikkeen etäisyyden terästä. Näppäintä voidaan painaa, kun ensimmäinen trimmattava blokki on säädetty sopivalle etäisyydelle terästä. Kun näyte on leikattu ja uusi trimmattava blokki asetetaan blokin pidikkeeseen, näppäintä painetaan uudestaan. Tällöin blokin pidike siirtyy automaattisesti samalle etäisyydelle terästä, missä se oli ennen ensimmäisen näytteen trimmaamista. **Huom!** Tämän toiminnon käyttäminen edellyttää sitä, että leikattavat blokit on valettu samalle tasolle.

Retraktiotoiminto

Kun tämä toiminto on päällä, blokin pidike siirtyy leikatessa aina 60 µm taaksepäin suojaten siten näyteblokkia ja terää. Terä ei tällöin kosketa tai naarmuta näytettä. Toiminto on päällä, kun RETRACTION -valo palaa ohjauspaneelin näytöllä. Toiminto voidaan kytkeä päälle tai pois näppäimen 1 valikon kautta.

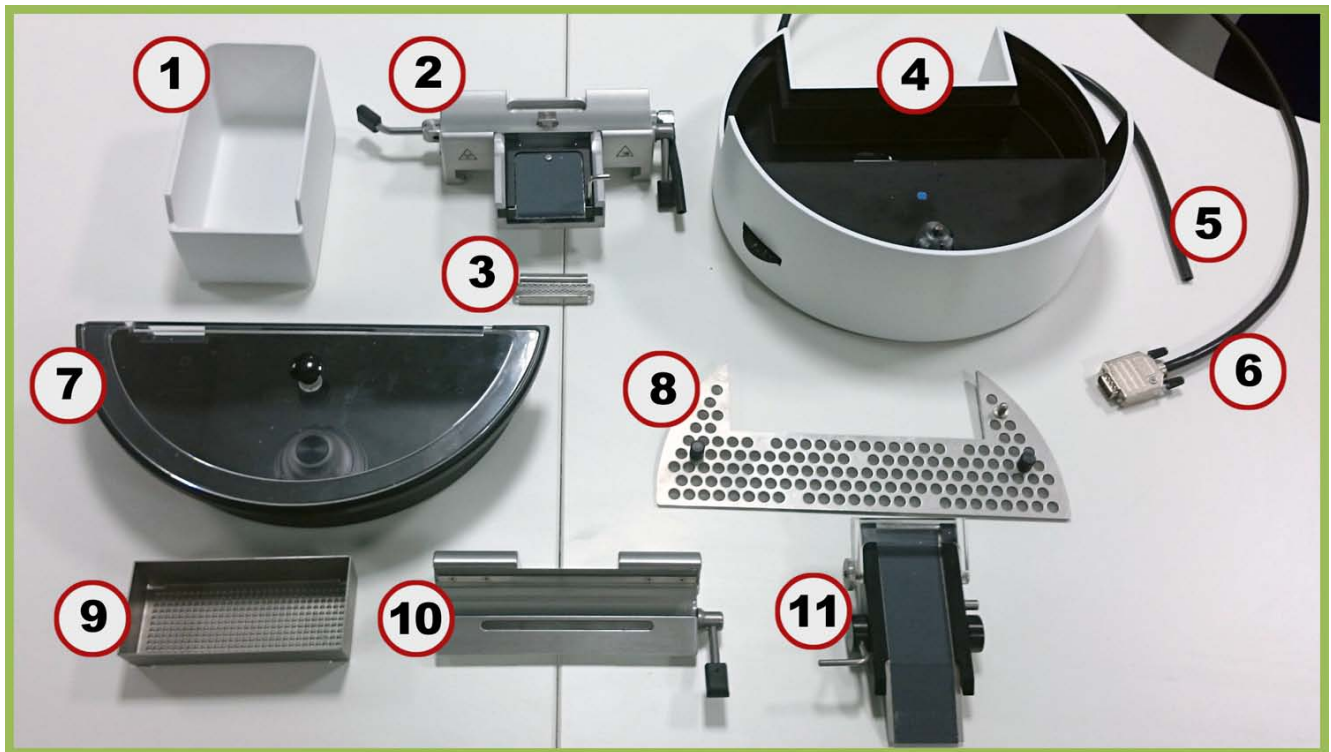
4 Thermo Scientific Microm STS-vesihaude

STS-vesihaude koostuu veitsenpidikkeeseen kiinnitetystä leikkeenkuljetinsillasta, lämmitettävästä vesialtaasta sekä lämpötilansäätöyksiköstä. Se on helppo kiinnittää mikrotomiin, jolloin saadaan käyttöön mikrotomityöskentelyä helpottava vesiliukuominaisuus. Vesiliu'un avulla leikkeitä ei tarvitse erikseen suoristaa ja siirtää erillisiin vesihauteisiin, vaan leikkeet aukeavat virtaavassa vedessä. Onnistuneet leikkeet katkaistaan katkaisuterällä, jolloin ne valuvat kuljetinsilta pitkin suoraan lämminvesialtaaseen, josta ne voidaan poimia objektilasille. STS-vesihaude helpottaa myös laadunarviointia leikkaamisen aikana. Leikkeiden laatu voidaan tarkastaa heti kun yksittäinen leike tai leikenauha aukeaa virtaavassa vedessä ja seuraavan kerran sitten kun leikkeet kelluvat lämminvesihauteessa. Syntyvä parafiinijäte ohjautuu virtaavan veden mukana suoraan parafiinijätekoriin, joten työskentely on siistiä.



Kuva 4. STS-integroitu Microm HM340E.

4.1 STS-vesihauteen osat



Kuva 5. STS-vesihauteen osat.

1. jätekaukalo
2. veitsenpidikkeen alaosa
3. pieni jäteritilä
4. kylmävesiallas
5. virtausletku
6. vesialtaan kaapeli
7. lämminvesihaude + kansi
8. jätesiivilä
9. parafiinijätekori
10. veitsenpidikkeen yläosa
11. leikkeen kuljetinsilta

4.2 Laitteen kokoaminen

Kootessasi laitetta voit käyttää apuna myös sivujen 7 ja 8 kuvia.

1. Aseta jätekaukalo paikalleen mikrotomin metallisten kiskojen väliin.
2. Aseta veitsenpidikkeen alaosa paikalleen liu'uttamalla se kiskoille. Kiristä osa paikalleen sen vasemmalla puolella olevasta vivusta.

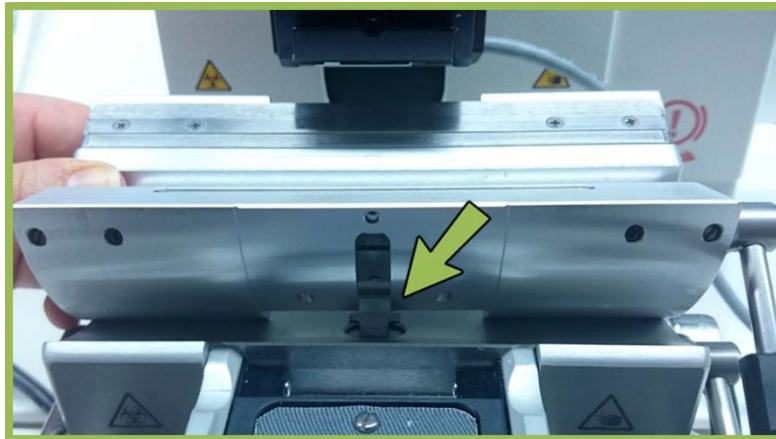


Kuva 6. Veitsenpidikkeen alaosa asetetaan paikalleen.

3. Aseta pieni jäteritilä paikalleen veitsenpidikkeen alaosan takaosassa olevaan koloon.
4. Aseta kylmävesiallas paikalleen työntämällä se kiinni mikrotomin etuosaan.
5. Aseta jätesiivilä paikalleen kylmävesialtaan päälle.
6. Aseta lämminvesihaude paikalleen kylmävesialtaan lämpölevyn päälle.
7. Laita sellua parafiinijätekorin pohjalle ja aseta se paikalleen jätesiivilän päälle niin, että jätekorin vino sivu asettuu tiiviisti lämminvesihauteen seinää vasten.
8. Täytä kylmävesiallas 600 ml tislattulla vedellä kaatamalla vesi jätesiivilän läpi.
9. Täytä lämminvesihaude 800 ml tislattulla vedellä. Laita kansi päälle.

4.2.1 Veitsenpidikkeen ja kuljetinsillan kokoaminen

1. Löysää veitsenpidikkeen alaosan oikealla puolella oleva vipu. Liitä veitsenpidikkeen yläosa veitsenpidikkeen alaosaan kuvan osoittamalla tavalla. Kiristä vipu.



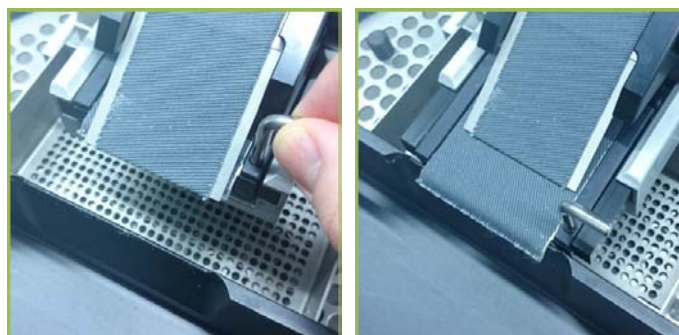
Kuva 7. Veitsenpidikkeen yläosa liitetään alaosaan.

2. Löysää veitsenpidikkeen yläosan oikealla puolella oleva vipu. Liu'uta kuljetinsilta paikalleen veitsenpidikkeen yläosaan kuvan osoittamalla tavalla. Kiristä vipu.



Kuva 8. Veitsenpidikettä asetetaan paikalleen.

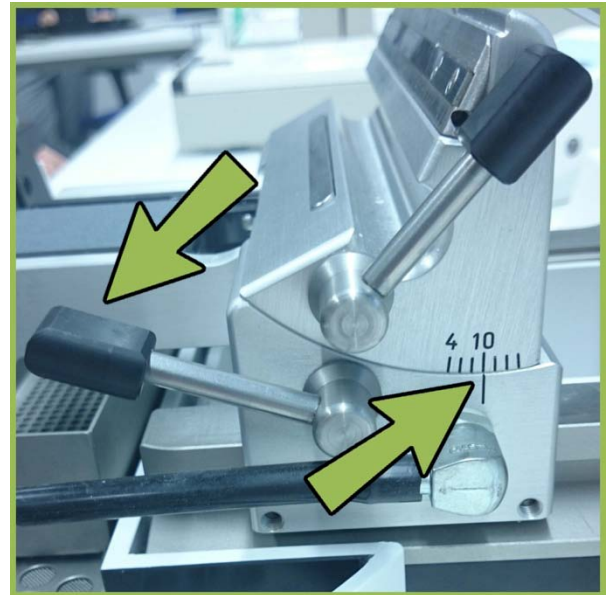
3. Tarkista että kuljetinsilta on sopivalla etäisyydellä lämminvesihauteesta. Kuljetinsillan tulee yltää vesihauteeseen kun silta on laskettu alas. Silta voidaan nostaa ja laskea kuvassa 9 näkyvällä vivulla.



Kuva 9. Kuljetinsilta ylhäällä ja laskettuna lämminvesihauteeseen.

4.2.2 Leikkauskulman säätäminen

1. Löysää nuolen osoittama veitsenpidikkeen alaosan kiristysvipu.
2. Säädä leikkauskulma liikuttamalla veitsenpidikkeen yläosaa. Sopiva leikkauskulma on $10^{\circ} \pm 2^{\circ}$. Leikkauskulma luetaan asteikolta kuvan 10 mukaisesti.
3. Kiristä kohdassa 1 löysäty vipu. Leikkauskulma on säädetty.



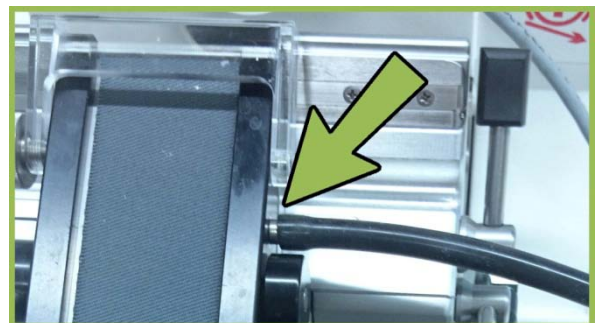
Kuva 10. Leikkauskulman säätäminen.

4.2.3 Virtausletku

1. Tarkista että veden virtausnopeussäädin on säädetty nolville.
2. Ime ruiskulla ilmakuplat pois virtausletkusta. Kun ruiskuun virtaa vettä, ilmakuplat on poistettu.
3. Kiinnitä virtausletku kuljetinsillan oikealla puolella olevaan liitoskohtaan.



Kuva 11. Ilmakuplia imetään ruiskulla.



Kuva 12. Virtausletkun liitoskohta.

4.2.4 Lämmönsäätöyksikkö

1. Kiinnitä vesialtaan kaapeli lämmönsäätöyksikön takapaneeliin ja kiristä ruuvit.



Kuva 13. Lämmönsäätöyksikön takapaneeli.

2. Tarkista, että veden virtausnopeus on säädetty nolille. Virtausnopeudensäädin löytyy kylmävesialtaan kyljestä.



Kuva 14. Virtausnopeudensäädin.

3. Laita virtajohto sähköpistokkeeseen ja käynnistä STS-vesihaude painamalla lämmönsäätöyksikön virtanappia (0\1), jolloin lämminvesihauteen lämpötila alkaa nousta.



Kuva 15. Lämmönsäätöyksikön etupaneeli.

4. Aseta vesihauteen lämpötila lämmönsäätöyksikön etupaneelista painamalla SET-näppäintä. Pidä se pohjassa, kun asetat lämpötilan. Valitse haluttu lämpötila nuolinäppäimillä. Parafiinileikkeiden leikkaamiseen sopiva lämpötila on n. 42 °C. Pidä asetusnäppäintä pohjassa vielä pari sekuntia, jotta valittu lämpötila tallentuu muistiin.

5 Mikrotomilla työskentely

Mikrotomilla työskentely vaatii taitoa, huolellisuutta ja kärsivällisyyttä. Työskentelyn aikana tulee kiinnittää huomiota seuraaviin tärkeisiin seikkoihin.

- ✓ Käytä leikkaamiseen aina terävää veistä. Kun veitsi tylsyy, vaihda se uuteen.
- ✓ Huolehdi veitsen puhtaudesta. Siihen tarttuu helposti parafiinia, jolloin leikkaaminen vaikeutuu. Siksi leikkaamisen aikana veitsestä tulee aika ajoin pyyhkiä parafiinijäämiä pensselillä.
- ✓ Blokin lämpötila. Leikkaaminen on helpompaa, kun blokki on kylmä. Parafiini pehmenee lämmitessään, jolloin leikkaaminen vaikeutuu. Huolehdi siitä, ettei blokki pääse lämpenemään liikaa ja laita se tarvittaessa takaisin kylmenemään.
- ✓ Leikkausnopeus. Mitä kovempaa materiaalia leikkaat, sitä hitaampi leikkausnopeus. Sopiva leikkausnopeus löytyy kokeilemalla.
- ✓ Oikea leikkauskulma on tärkeä laadukkaiden leikkeiden saamiseksi. Jos leikkauskulma on liian loiva, blokki leikkautuu huonosti tai ei leikkaudu lainkaan. Jos leikkauskulma on liian jyrkkä, leikkeeseen ja blokin pinnalle syntyy värinäaalloja. Oikea leikkauskulma Thermo Scientific Microm -mikrotomeissa on 10 astetta. Leikkauskulman säätäminen käsitellään luvussa 4.2.3.
- ✓ Joskus leikkaamisessa ilmenevät ongelmat johtuvat aiempien työvaiheiden epäonnistumisesta. Epäonnistunut kuduskuljetus aiheuttaa näytteen huonon leikkautuvuuden. Jos blokki murenee leikattaessa, syynä on epäonnistunut valaminen.
- ✓ Jotkut näytemateriaalit ovat vaikeampia leikattavia, kuten veriset tai rasvaiset näytteet. Niiden leikkaaminen vaatii taitoa ja harjaantumista.

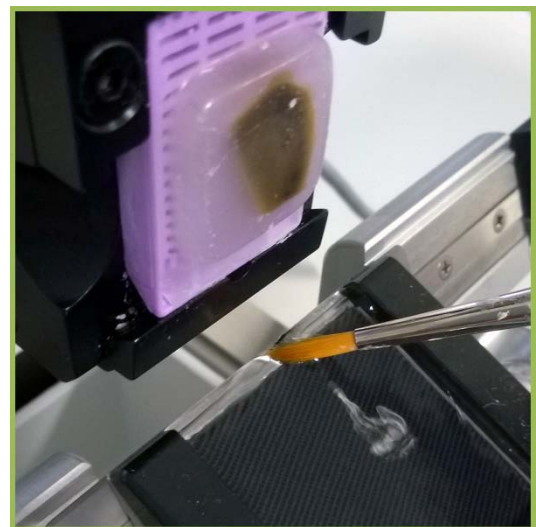
Huom! Noudata aina työturvallisuusohjeita mikrotomilla työskennellessäsi!
Varomaton työskentely voi aiheuttaa vammoja.

5.1 Esivalmistelut

1. Laita leikattavat blokit kylmenemään kylmälevylle.
2. Tarkista, että laite on koottu oikein ja käyttökunnossa.
3. Laita mikrotomin pistoke pistorasiaan ja käynnistä virrat. Mikrotomin virtakatkaisin löytyy laitteen takaosasta alhaalta. Cool-Cut käynnistyy laittamalla pistoke pistorasiaan.
4. Ota esille tarvittavat välineet. Tarvitset pensselin, veitsiä, objektilaseja ja käsipyyhepaperia.
5. Aseta veitsi paikalleen luvun 5.1.1 ohjeiden mukaisesti.
6. Sääda trimmaus- ja leikepaksuudet luvun 5.1.2 ohjeiden mukaisesti.
7. Käynnistä veden virtaus vesialtaan kyljessä olevasta veden virtausnopeuden säätimestä. Sopiva virtausnopeus on välillä 4-5. Vesi virtaa liian voimakkaasti, jos vettä valuu veitsen taakse.
8. Kastele veitsen terä ja koko kuljetinsilta pensselillä, kunnes vesi virtaa tasaisesti pitkin kuljetinsiltaa.



Kuva 16. Virtausnopeudensäädin.



Kuva 17. Veitsen terää kostutetaan pensselillä.

5.1.1 Veitsen asettaminen

1. Löysää kuvassa näkyvä veitsenpidikkeen yläosan vipu.
2. Liu'uta veitsi paikoilleen ja kiristä vipu.

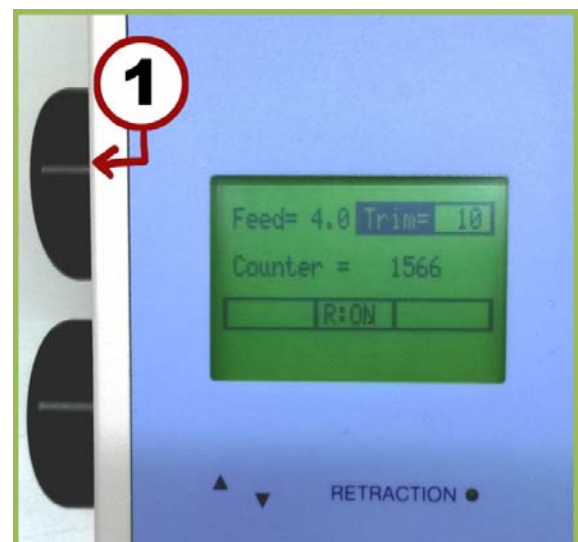


Kuva 18. Kiristysvipu ja veitsen liu'uttaminen paikalleen.

Huom! Mikrotomin veitsi on erittäin terävä, ja sillä viiltää helposti sormeensa. Käytä aina jarrua kun vaihdat veitsen.

5.1.2 Leike- ja trimmauspaksuuksien säätäminen

1. Trimmaamiseen käytetään leikkausasetusta *Trim*. Valitse *Trim* ohjauspaneelin näytöltä painamalla nuppia 1. Säädä trimmauspaksuus pyörittämällä nuppia 1. Sopiva trimmauspaksuus on 10 - 20µm.
2. Leikkaamiseen käytetään leikkausasetusta *Feed*. Valitse *Feed* ohjauspaneelin näytöltä painamalla nuppia 1. Säädä leikepaksuus pyörittämällä nuppia 1. Sopiva leikepaksuus on 3-5µm.



Kuva 19. Ohjauspaneeli. Kulloinkin valittuna oleva asetus näkyy näytöllä tummennetulla pohjalla.

5.2 Trimmaaminen

Näyteblokit on trimmattava ennen kuin niistä voidaan tehdä leikkeitä. Trimmaus tarkoittaa ylimääräisen parafiinin poistamista näytteen pinnalta. Blokki on trimmattu, kun näytealue paljastuu kokonaan parafiinin alta. Alla on muutamia trimmaamista havainnollistava esimerkkikuvia.



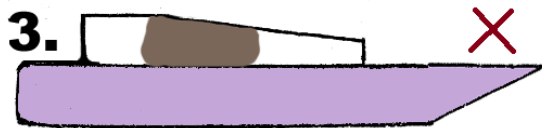
1. Trimmaamaton blokki.

Näytealue on vielä parafiinin sisällä.



2. Trimmattu blokki.

Koko näytealue on paljastunut parafiinin sisältä. Blokin pinta on kauttaaltaan tasainen.



3. Epätasaisesti trimmattu blokki.

Terä leikkaa blokkia vain osittain. Blokin pidike on löystynyt tai sen säätöjä on muutettu.



4. Vaurioitunut blokki.

Blokin pidike on säädetty liian lähelle veitsenterää. Veitsi on murtanut blokista kokonaisen palasen ohuen leikkeen sijaan.



Kuva 20.

Vasemmalla trimmaamaton blokki.

Keskellä trimmaus on vielä kesken; näytealue on vielä osittain parafiinin sisällä.

Oikealla trimmattu blokki. Näytealue on paljastunut kokonaan parafiinin sisältä.

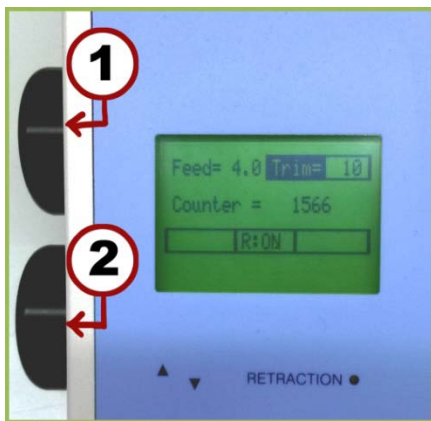
5.2.1 Trimmaamisen työvaiheet



Kuva 21. Blokin asettaminen.

1. Aseta blokki pidikkeeseen kuvan osoittamalla tavalla.

Huom! Mikrotomin veitsi on erittäin terävä, ja sillä viiltää helposti sormeensa. Käytä aina veitsensuojaa ja jarrua kun vaihdat blokin tai pidät taukoa työskentelystä.



Kuva 22. Ohjauspaneeli.

2. Valitse ohjauspaneelin näytöltä *Trim* painamalla nappia 1.

3. Sääda blokki sopivalle etäisyydelle veitsestä pyörittämällä varovasti ohjauspaneelin nappia 2. Painamalla nappia blokki siirtyy aina yhden valitun leikepaksuuden verran lähemmäs terää.

Huom! Ole varovainen ettei veitsi kolhaise blokkia. Blokki voi murtua ja pahimmassa tapauksessa näyte voi mennä kokonaan pilalle. Etäisyyden huolellinen säätäminen on tärkeää.

4. Pyöritä ohjauspyörää itsestäsi pois päin suuntautuvalla liikkeellä. Jokainen ohjauspyörän pyörähdys tuo blokkia yhden valitun trimmauspaksuuden verran lähemmäs veistä.



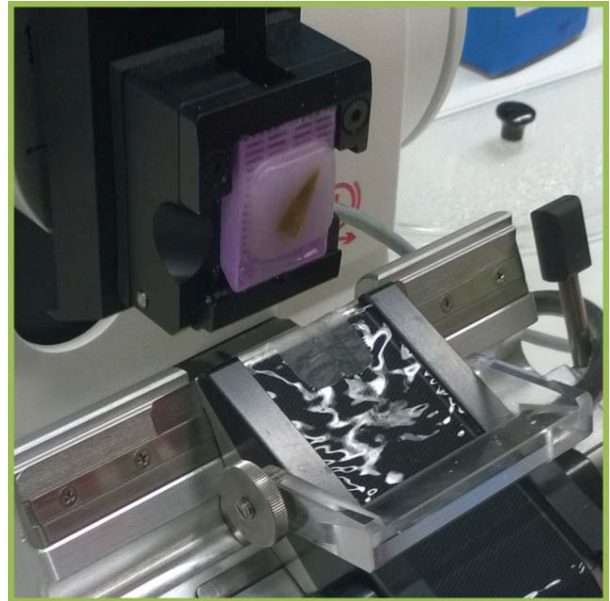
Kuva 23. Nuoli osoittaa katkaisuterän vipua. Kuljetinsilta on ylhäällä.

5. Kun veitsi osuu blokkiin, se alkaa leikata ja syntyy parafiininauha.
6. Katkaise syntyvä parafiininauha katkaisuterällä painamalla katkaisuterän vipua. Jäte valuu kuljetinsiltaa pitkin jätekoriin.

Huom! Trimmausvaiheessa kuljetinsillan on oltava (kuvan 23 mukaisesti) ylhäällä, jotta parafiininauha ei valu lämminvesihauteeseen vaan parafiinijätekoriin.

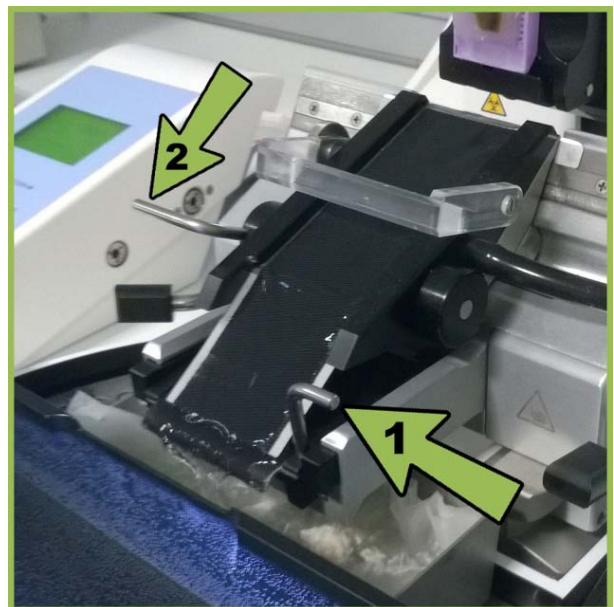
5.3 Leikkaaminen

1. Kun blokki on trimmattu, valitse *Feed* ohjauspaneelin näytöltä.
2. Aloita varsinainen leikkaaminen. Pyöritä ohjauspyörää niin leikkeitä alkaa syntyä.



Kuva 24. Onnistunut leike on valmis siirrettäväksi lämminvesialtaaseen.

3. Kun saat leikattua hyvän leikkeen, nosta kuljetinsilta vesihauteeseen nostamalla kuvan nuolen 1 osoittamaa vipua.
4. Katkaise sitten leike katkaisuterällä painamalla nopeasti vipua 2. Leike liukuu lämminvesihauteeseen.
5. Nosta kuljetinsilta nopeasti takaisin paikoilleen, jotta lämminvesihauteen lämpötila ei laske.



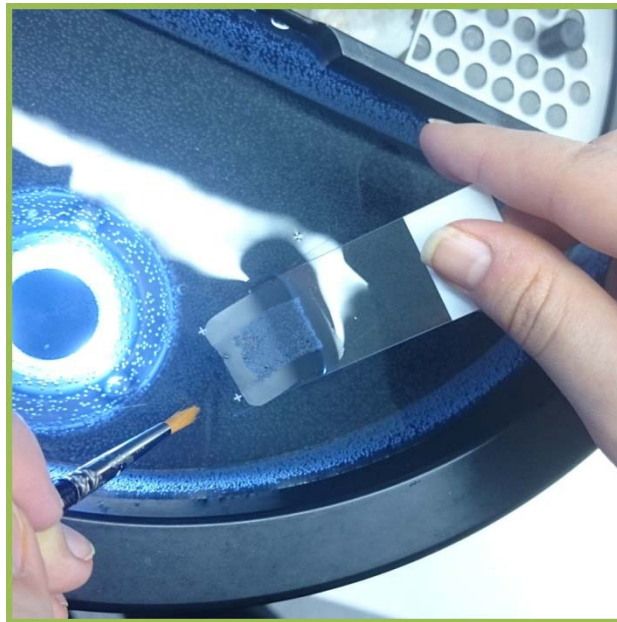
Kuva 25. Nuoli 1: kuljetinsillan vipu. Nuoli 2: katkaisuterän vipu.

Huom! Jos kylmä vesi jää valumaan näytteen kuljetinsillaa pitkin lämminvesihauteeseen, lämminvesihauteen lämpötila laskee ja kylmän veden lämpötila nousee. Tällöin leikkeet eivät enää avaudu kuljetinsillalla ja suoristu lämminvesihauteessa. Siksi on tärkeää nostaa kuljetinsilta pois lämminvesihauteesta heti sen jälkeen, kun leike on valunut sinne. Tarkkaile lämminvesihauteen lämpötilaa lämpötilansäätöyksikön näytöltä.

6. Poimi leike altaasta objektilasille pensselin avulla. Pidä leikettä hellästi paikallaan pensselin kärjellä.

Upota objektilasi veteen ja sieppaa leike lasille.

Huom! Käytä poimimiseen vain kuivaa pensseliä. Poimiminen ei onnistu märällä pensselillä, sillä parafiini tarttuu siihen kiinni. Huolehdi myös siitä, että laadukas leike ei repeä tai rypisty kun siirrät sitä objektilasille.



Kuva 26. Leikettä poimitaan objektilasille.

7. Tee lasille tarvittavat merkinnät ja aseta lasi kuivumaan.
8. Arvioi leikkkeen lopullinen laatu, kun lasi on kuivunut.

5.4 Hyvän leikkeen kriteerit

- ✓ Arvioi leikkeen laatua jo ennen kuin käytät katkaisuterää ja päästät leikkeen valumaan lämminvesihauteeseen.
- ✓ Arvioi leikkeen laatu uudelleen sen kelluessa vesihauteessa. Lämminvesihauteen valo valaisee leikkeen alapuolelta, jolloin laatua on helpompi arvioida.

- ✓ Leikkeessä ei saa olla ryppyjä, reikiä eikä artefaktaa
- ✓ Leikkeen tulee olla ehjä ja tasaisen ohut
- ✓ Näytealueen tulee näkyä kokonaisena
- ✓ Leikkeessä ei saa olla repeämiä tai halkeamia eikä siitä saa puuttua osia
- ✓ Leikkeessä ei saa olla paloja muista leikkeistä tai roskia
- ✓ Leikkeen ja objektilasin väliin ei saa jäädä ilmakuplia tai roskia



Leike 1. Onnistunut leike, jossa koko näytealue on ehjä, rypytön ja siisti.

Leike 2. Muuten onnistunut leike, mutta näytealueella on ryppyjä ja se on lasilla ylösalaisin. (vrt leike 1.)

Leike 3. Kauttaaltaan rypyinen ja reikäinen leike. Näyte on myös trimmattu huonosti; osa näytealueesta näkyy himmeämpänä. Leikkeessä näkyy myös artefaktaa.

Leike 4. Leikkeessä on raita-artefaktaa, joka johtuu sotkuisesta tai tylsästä veitsestä.

Leike 5. Leikkeen ja objektilasin välissä on ilmakuplia. Leikkeen poimiminen objektilasille on epäonnistunut.

5.4 Ratkaisuja leikkaamisen ongelmatilanteisiin

Ongelma	Syy	Ratkaisu
Leikkeet ovat paksuudeltaan epätasaisia	Tylsä veitsi Väärä leikkauskulma	Vaihda veitsi (ks. luvut 5.1.1 ja 6.1) Säädä leikkauskulma (ks. luku 4.2.3)
Leikkeet ovat ryppyisiä	Tylsä veitsi Liian lämmin blokki Väärä leikkauskulma Liian suuri leikkausnopeus	Vaihda veitsi Kylmennä blokki Säädä leikkauskulma Pyöritä ohjauspyörää hitaammin
Leikkeissä on värinäaalloja	Liian suuri leikkausnopeus Väärä leikkauskulma	Pyöritä ohjauspyörää hitaammin Säädä leikkauskulma
Leikkeet repeilevät leikatessa	Tylsä veitsi Sotkuinen veitsi	Vaihda veitsi Puhdista veitsi tai vaihda se
Leikkeissä on raitoja tai naarmuja	Tylsä veitsi Sotkuinen veitsi	Vaihda veitsi Puhdista veitsi tai vaihda se
Blokki leikkautuu vain osittain tai viistosti	Blokki on trimmattu epätasaisesti Blokkipidike on väärässä asennossa suhteessa veitseen	Trimmaa blokkia kunnes sen pinta on kauttaaltaan tasainen Pyydä opettaja säätämään pidike oikeaan asentoon
Leikkeet eivät suoristu	Kuljetinsilta on jäänyt valuttamaan vettä lämminvesihauteeseen	Nosta kuljetinsilta ja odota että lämminvesihauteen lämpötila nousee

Taulukko 1. Ratkaisuja leikkaamisen ongelmatilanteisiin. Mukaellen Thermo Scientific Microm HM355S käyttöohje 2009, 64.

6 Kun lopetat työskentelyn

Kun olet lopettanut työskentelyn, tee ensin seuraavat asiat.

- ✓ Laita jarru päälle vääntämällä ohjauspyörän alla oleva jarruvipu yläasentoon. Tarkista, että ohjauspyörä on lukkiutunut.
- ✓ Sammuta virrat ja irrota pistokkeet pistorasioista. Mikrotomin virtakatkaisin löytyy laitteen takaa. STS-vesihaude sammutetaan lämmönsäätöyksikön etupaneelin virtanapista. Cool-Cut sammuu, kun sen pistoke irrotetaan pistorasiasta.

6.1 Veitsen irrottaminen

1. Löysää nuolen osoittama vipu ja liu'uta sitten veitsi sivusuunnassa varovaisesti pois paikaltaan.
2. Laita käytetty veitsi veitsikotelon pohjasta löytyvään jätesäiliöön.



Kuva 27. Veitsen irrottaminen.

6.2 STS-vesihauteen puhdistus ja huolto

Voit käyttää apuna sivun 8 kuvaa ja luetteloa laitteen osista.

Huom! Kaikki irrotettavat osat tulee puhdistaa huolellisesti parafiinistä. Irrotettavien metalliosien puhdistukseen voi käyttää parafiinin poistoainetta. Parafiinijätettä ei saa joutua lavuaariin, sillä se tukkii viemärit.

1. Nosta lämminvesihaude pois lämmityslevyltä. Kaada vesi lavuaariin. Huuhtelevi ja kuivaa.
2. Tyhjennä parafiinijätekorin sisältö roskakoriin. Puhdista jätekorin.
3. Nosta jätesiivilä pois kylmävesialtaan päältä. Puhdista ja huuhtelevi.
4. Irrota virtausletku kuljetinsillasta ja laita sen pää jäteastiaan, esimerkiksi tyhjään dekantterilasiin.
5. Tyhjennä kylmävesiallas jäteastiaan pumpun avulla: paina lämmönsäätöyksikön sinistä nappia pohjassa. Pyyhi tyhjennetty allas kuivaksi paperilla.



Kuva 28. Jäteastia ja virtausletku.



Kuva 29. Tyhjennysnappi.

6. Irrota kylmävesialtaan pohjassa oleva pumppusuodatin imuletkusta. Puhdista suodatin parafiinistä.
7. Irrota kuljetinsilta. Löysää veitsenpidikkeen yläosan oikealla puolella oleva vipu. Liu'uta kuljetinsilta sivusuunnassa pois paikaltaan.
8. Puhdista kuljetinsilta parafiinistä. Puhdista katkaisuterä ja sen takaosa erityisen huolellisesti.
9. Löysää veitsenpidikkeen alaosan oikealla puolella oleva vipu. Liu'uta ja nosta veitsenpidikkeen yläosa pois paikoiltaan.
10. Löysää veitsenpidikkeen alaosan vasemmalla puolella oleva vipu. Irrota veitsenpidikkeen alaosa vetämällä se pois kiskoilta. Puhdista myös pieni jäteritilä.
11. Irrota ja puhdista jätekaukalo.

Lopuksi: Älä kokoa STS-vesihaudetta, vaan jätä irrotettavat osat kuivumaan yön yli. Näin vesi ei aiheuta osien jumittumista toisiinsa.

7 Lähteet

Chandak, T., Chaudhary, M. & Chandak, V. 2012. *Microtomy: microtome and its applications*. Saarbrücken: LAP Lambert Academic Publishing.

Junqueira, L.C., Carneiro, J. & Kelley R. 1998. *Basic Histology*. 9.painos. New York: McGraw-Hill companies.

Mediq Suomi Oy. *Microm STS-vesihaude*. Käyttöohje.

Thermo Scientific. 2011. *Microm HM340E: Rotary Microtome*. Operation Manual.

Thermo Scientific. 2009. *Microm HM355S - rotaatiomikrotomi*. Käyttöohje.

Thermo Scientific. 2011. *Section Transfer System Microm STS For Rotary Microtomes*. Instruction Manual.

Kaikki kuvat © Katja Juntto & Satu Kontinen 2014 - 2015